

Patricia Schöppner
Sara Großbruchhaus
Claudia Nerdel

Biotechnologie praxisorientiert unterrichten

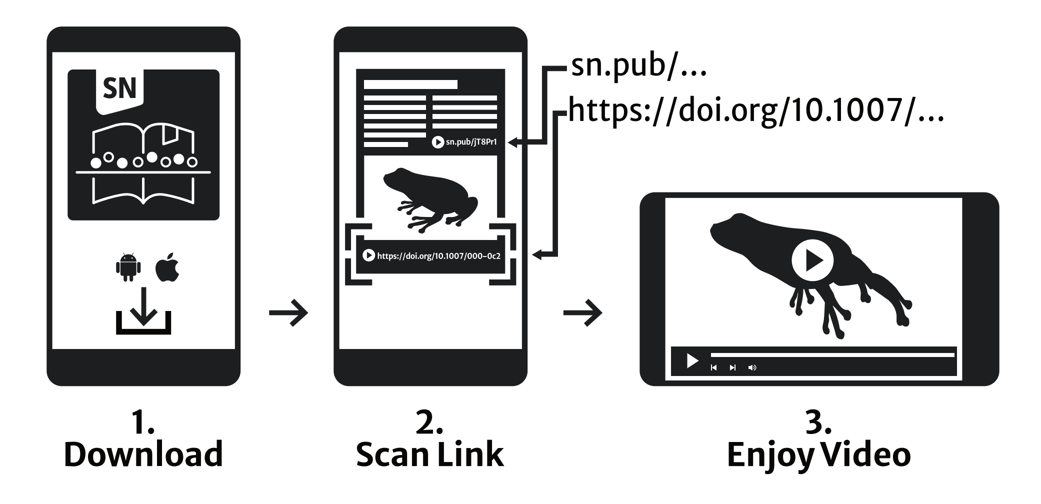
Aktuelle Kontexte für Schule und Lehrerfortbildung





Biotechnologie praxisorientiert unterrichten

Springer Nature More Media App



Support: customerservice@springernature.com

Patricia Schöppner • Sara Großbruchhaus • Claudia Nerdel

Biotechnologie praxisorientiert unterrichten

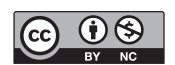
Aktuelle Kontexte für Schule und Lehrerfortbildung



Patricia Schöppner
Technische Universität München
München, Deutschland

Sara Großbruchhaus
Technische Universität München
München, Deutschland

Claudia Nerdel
Technische Universität München
München, Deutschland



Die Online-Version des Buches enthält digitales Zusatzmaterial, das berechtigten Nutzern durch Anklicken der mit einem „Playbutton“ versehenen Abbildungen zur Verfügung steht. Alternativ kann dieses Zusatzmaterial von Lesern des gedruckten Buches mittels der kostenlosen Springer Nature „More Media“ App angesehen werden. Die App ist in den relevanten App-Stores erhältlich und ermöglicht es, das entsprechend gekennzeichnete Zusatzmaterial mit einem mobilen Endgerät zu öffnen.

ISBN 978-3-662-65209-1 ISBN 978-3-662-65210-7 (eBook)
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.d-nb.de abrufbar.

Planung/Lektorat: Sarah Koch

Springer Spektrum ist ein Imprint der eingetragenen Gesellschaft Springer-Verlag GmbH, DE und ist ein Teil von Springer Nature.
Die Anschrift der Gesellschaft ist: Heidelberger Platz 3, 14197 Berlin, Germany

Bundesministerium für Bildung und Forschung



Dieses Material basiert auf Arbeiten, die von der Amgen Foundation durch ein Zuschussprogramm des Education Development Center, Inc. unterstützt wurden.



Das diesem Werk zugrundeliegende Vorhaben wird im Rahmen der gemeinsamen „Qualitätsoffensive Lehrerbildung“ von Bund und Ländern mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 01JA1801 gefördert.

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen.







Vorwort

Spätestens seit Beginn der Corona-Pandemie in Deutschland Anfang 2020 ist die *Polymerase Chain Reaction* (PCR) als Goldstandard der labormedizinischen Diagnostik zur Detektion von SARS-Cov2-Infektionen in ihren unterschiedlichen Varianten eine echte Berühmtheit unter den Analysemethoden geworden und über die mediale Berichterstattung ins öffentliche Bewusstsein gerückt. Die Methode ist jedoch schon bedeutend älter: Das Verfahren wurde Anfang der 1980er-Jahre entdeckt und hat seitdem verschiedene Bereiche der Biowissenschaften und Medizin nachhaltig beeinflusst und vorangetrieben, z. B. durch die umfassende Sequenzierung und Aufklärung der Nukleotid-Abfolgen in der DNA von (Nutz-)Pflanzen, Tieren sowie dem Menschen im *Human Genome Project*. Damit einhergehend haben sich weitere biotechnologische Verfahren zur Veränderung der DNA etabliert, die z. B. die langfristige klassische Züchtung von Pflanzen in den Ernährungs- und Agrarwissenschaften durch menschliche Eingriffe in das Genom deutlich beschleunigen oder neue Behandlungsmöglichkeiten von Erkrankungen wie Krebs und Alzheimer eröffnen. Diese Verfahren, die auf menschlichen Eingriffen ins Erbgut von pflanzlichen und tierischen Organismen basieren, bergen damit gleichermaßen Chancen und Risiken und sind als solche gemeinsam mit der Reflexion ihrer ethischen Implikationen Bestandteil schulischer Bildungspläne und Kerncurricula in der Mittel- und Oberstufe.

Molekularbiologische und biotechnologische Arbeitstechniken und Erkenntnismethoden sind sowohl theoretisch als auch praktisch komplex. An den Schulen hat man häufig kaum Möglichkeiten, diese praktisch durchzuführen und übend zu wiederholen; ferner ist man dabei aufgrund von Sicherheitsstandards beim Umgang mit gentechnisch veränderten Organismen häufig auf Forschungslabore an Universitäten und Forschungseinrichtungen angewiesen. Mit dem weltweiten Bildungsprogramms *Amgen Biotech Experience* der Amgen Stiftung entstand daher in den späten 1980er-Jahren in Amerika die Idee, molekularbiologische Methoden wie PCR, Restriktionsverdau und Agarose-Gelelektrophorese sowie die Klonierung rekombinanter Proteine für den Schulunterricht aufzubereiten und das erforderliche Equipment den mitmachenden Schulen zur Verfügung zu stellen, damit Lehrkräfte und Schülerinnen und Schüler diese Methoden an ihren Schulen selbst erproben können. Das Programm wurde zunächst in USA, Kanada und Großbritannien ausgerollt und erreichte in den 2000er-Jahren auch weitere Teile in Europa, Asien und Australien. Im Rahmen von ABE Germany entstanden seit 2017 die spezifischen Adaptionen des amerikanischen Programms an die deutschen Bildungspläne, sodass das Arbeiten mit den genannten DNA-Techniken auch hierzulande praktisch in Schulen erprobt werden kann. Seit Beginn des ABE-Programms in Deutschland haben wir 336 Lehrkräfte mit einer regionalen Organisation von Fortbildungen und nachfolgend deren 4380 Schülerinnen und Schüler durch die Implementation in den Biologieunterricht der Mittel- und Oberstufen erreicht. Die lebensweltlichen, biowissenschaftlichen und medizinischen Kontexte, in denen PCR, Agarose-Gelelektrophorese und Restriktionsverdau eingesetzt wer-

den können, sind so vielfältig, dass wir die Module stetig thematisch und methodisch erweitert und in neue Themengebiete eingebettet haben. Die schriftliche Abfassung dieser Modulentwicklung mit umfassend bebilderten oder videobasierten praktischen Anleitungen, übersichtlichen Einweisungen in die Methoden, spannenden fachlichen Hintergründen und didaktischen Impulsen für Ihren Biologieunterricht haben Sie nun digital vor Augen oder halten Sie als Hardcopy in den Händen.

Durch wiederholte Anfragen nach neuen Kursen durch unsere engagierten Fortbildungsteilnehmerinnen und -teilnehmer differenzierte sich das Angebot zunehmend und baut heute mit Basis- und Fortgeschrittenenmodulen sowohl inhaltlich als auch methodisch aufeinander auf. Mit der strukturierten Niederschrift unserer vormaligen Skripte aus den verschiedenen Lehrerfortbildungen in diesem E-Book haben wir des Weiteren die didaktische Konzeption unseres Fortbildungsprogramms für die Lehrerbildung und -fortbildung zu einem kleinen biotechnologischen Curriculum weiterentwickelt, das wir in den vergangenen Jahren im Rahmen der *Qualitätsoffensive Lehrerbildung* in der gymnasialen und beruflichen Lehrerbildung und -fortbildung ausgerollt und stetig, u. a. auf fachgebundene und berufliche Oberstufen (FOS/BOS), erweitert haben. Beklagt wird schon seit Langem, dass die verschiedenen Studienabschnitte aus Fach- und Bildungswissenschaften sowie der Schulpraxis in der Lehrerbildung additiv nebeneinanderstehen, nicht ausreichend vernetzt werden und Lehramtsstudierende mit Eintritt in das Referendariat an der Schule einen echten Praxisschock erleiden, wenn sie erstmalig biologische Unterrichtsstunden geben sollen. Daher fördert das BMBF mit der Qualitätsoffensive Lehrerbildung deutschlandweit seit 2015 systematisch die Vernetzung von Fachwissenschaft, Fachdidaktik und Schulpraxis. Das vorliegende Buch umfasst neben der fachwissenschaftlichen und laborpraktischen Aufbereitung der molekularbiologischen Methoden PCR, Restriktionsverdau, Agarose-Gelelektrophorese und Proteinbiochemie didaktische Impulse für Ihren Unterricht, um das Fachwissen und Methodenwissen im Sinne der Erkenntnisgewinnung sowie die praktischen Handlungsroutinen sukzessive aufeinander aufzubauen.

All das wäre auch weiterhin graue Theorie und stünde unverbunden nebeneinander, wenn sich nicht unsere hochengagierten (angehenden) Lehrkräfte aktiv an einem Diskurs über unsere Module und ihre mögliche Einbindung in den Biologieunterricht so intensiv beteiligt hätten. Unser besonderer Dank gilt daher Nina Ostermeier und Julia Stich, dass sie im Rahmen ihrer W-Seminare mit uns kooperiert und die Proteinbiochemie mit ihren Schülerinnen und Schülern ausgiebig erprobt haben, sowie den zahlreichen Lehrkräften in den Fortbildungen, die nach der Implementation der Biotechnologiemodule Anregungen aus ihrer Unterrichtspraxis gegeben haben, um das modulare Angebot stetig inhaltlich, methodisch und didaktisch weiterzuentwickeln. Dieses Buch ist damit eine kollaborative Gemeinschaftsproduktion von Fachwissenschaftler*innen, Fachdidaktik*innen und Schulpraktiker*innen, um (angehenden) Lehrkräften und Schüler*innen die Möglichkeiten und Grenzen der Biotechnologie unterrichtspraktisch in der Schule zu eröffnen. Darüber hinaus haben weitere Helfer*innen aktiv an diesem Buch mitgewirkt und für Sie anschauliche Materialien, z. B. Erklärvideos, Arbeitsblätter

und Hintergrundinformationen zusammengestellt und für die Lehrkräftefortbildung, Seminare in der Lehrerbildung sowie für die Unterrichtspraxis aufbereitet. Diese Materialien finden Sie begleitend zu diesem Buch in unserem und Online-Material.

Ihnen allen sowie unseren Förderern, Amgen Stiftung und BMBF, gilt unser ganz herzlicher Dank!

Patricia Schöppner
Sara Großbruchhaus
Claudia Nerdel
München
September 2022

Inhaltsverzeichnis

Über die Autorinnen



Dr. rer. nat. Patricia Schöppner
ist Chemikerin und wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Professur für Fachdidaktik Life Sciences der Technischen Universität München. Sie studierte Chemie und promovierte 2016 in der Biochemie mit dem Fokus Biotechnologie an der Technischen Universität München. Seit 2017 ist sie als wissenschaftliche Koordinatorin im Amgen Biotech Experience Programm der Amgen Stiftung und seit 2020 in Teach@TUM der Qualitätsoffensive Lehrerbildung, BMBF, tätig. In diesem Rahmen entwickelte Patricia Schöppner ein regionales Fortbildungskonzept für Lehrkräfte an Gymnasien und beruflichen Schulen und erarbeitete mit Lehrkräften in deren Schulen vor Ort interessante Kontexte und Methoden der Biotechnologie für den Unterricht. Sie unterstützt darüber hinaus die Schülerforschung zu diesem Themenbereich in Kooperation mit interessierten Lehrkräften sowie am Schülerforschungszentrum Berchtesgadener Land. Auch in der Lehrerbildung hält sie regelmäßig Seminare und Praktika zur Biotechnologie ab.



M. Ed. Sara Großbruchhaus
ist wissenschaftliche Mitarbeiterin und Doktorandin an der Professur für Fachdidaktik Life Sciences der Technischen Universität München. Nach ihrem Bachelorabschluss in Molekularer Biotechnologie wechselte Frau Großbruchhaus in die naturwissenschaftliche Bildung zu Biologie und Chemie. Aktuell promoviert sie zu den Bedingungen für die Implementation von innovativen Themen und Methoden der Biotechnologie in den Unterricht. Ihr Fokus liegt dabei auf der Zusammenarbeit von Lehrkräften untereinander und mit der Universität. In diesem Rahmen führt sie ebenfalls Seminare und Workshops in der Lehrerbildung und -fortbildung durch und beteiligt sich an Schülerforschungsaktivitäten.



Prof. Dr. rer. nat. Claudia Nerdel
ist Inhaberin der Professur für Fachdidaktik Life Sciences, einer fächerübergreifenden Naturwissenschaftsdidaktik mit Schwerpunkt Biologiedidaktik, an der Technischen Universität München und wissenschaftliche Leiterin des Schülerforschungszentrums Berchtesgadener Land. Sie studierte Biologie, Chemie und Mathematik in Kiel und promovierte am IPN Kiel in der Biologiedidaktik. Dort arbeitete sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Biologiedidaktik und als Juniorprofessorin für Chemiedidaktik. 2009 nahm sie den Ruf auf die

neueingerichtete W2-Professur an und ist seitdem an der Technischen Universität München in der Lehrerbildung und -fortbildung sowie in der Schülerforschung tätig. Sie beschäftigt sich in ihrer Forschung mit der Lehrerbildung und -fortbildung zu fachbezogenen und didaktischen Innovationen und deren Implementation in den Biologieunterricht sowie mit der Kooperation von Lehrkräften und wissenschaftlichem Personal in professionellen Lerngemeinschaften. Weitere Schwerpunkte stellen das Lehren und Lernen mit digitalen Medien sowie die digitale Transformation im Kontext des Unterrichtsfachs Biologie und angrenzender MINT-Disziplinen dar; hierzu gehört insbesondere die Anwendung von künstlicher/maschineller Intelligenz in Schule und Hochschule. Schülerforschung und kooperative Netzwerke mit Schulen zu den genannten thematischen Schwerpunkten runden das Forschungsprofil ab.

Nähere Informationen zum Autorinnenteam erhalten Sie unter
► https://www.edu.tum.de/fdls/team/

Abkürzungsverzeichnis

BOS — Berufsoberschule(n): vermittelt eine allgemeine und fachtheoretische Bildung. Sie umfasst die Jahrgangsstufen 12 und 13
Bp — DNA-Größenstandard 100 bp
bp — Basenpaar(e)

cDNA — komplementäre DNA (engl. *complementary DNA*)

CFTR — *Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (Gen oder Protein)
CRY1 — Crypotochrom-1 (Gen oder Protein)

E — Eule (*Per*$^{4/4}$)
EE — Homozygot (Genotyp); Eule: Abendaktivität (Phänotyp)
E-Box — *Enhancer*-Box
E. coli — *Escherichia coli* Bakterium
EDTA — Ethylendiamintetraessigsäure
ERG — Eppendorf-Reaktionsgefäß

FOS — Fachoberschule(n): vermittelt eine allgemeine, fachtheoretische und fachpraktische Bildung, umfasst Jahrgangsstufen 11 und 12 und endet mit dem Fachabitur. Nach Jahrgangsstufe 13 Erwerb der fachgebundenen/allgemeinen Hochschulreife möglich

GFP — Grün fluoreszierendes Protein (engl. *Green fluorescent protein*)
GL HA — Glukose-Lösung mit Hefe-Alginat
GOD — Glukose-Oxidase
GPCRs — G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (engl. *G-protein coupled receptors*)

HE P — Heterozygot persistent
HE S — Heterozygoter Schmecker
HO N — Homozygoter Nicht-Schmecker (► Abschn. 8.3) Homozygot nicht-persistent (► Abschn. 9.3)
HO P — Homozygot persistent
HO S — Homozygoter Schmecker

II — Homozygot (Genotyp); Chlorid-Ionen-Kanal funktional (Phänotyp)
ii — Homozygot (Genotyp); Chlorid-Ionen-Kanal defekt (Phänotyp)

kb — Kilobase(n)

L — Lerche (*Per*$^{5/5}$)
LE — Heterozygot (Genotyp); Mischtyp (Phänotyp)
LL — Homozygot (Genotyp); Lerche: Morgenaktivität (Phänotyp)
LL LA — Laktose-Lösung mit Laktase-Alginat
LL HA — Laktose-Lösung mit Hefe-Alginat
LCT — Laktase-Phlorizin-Hydrolase (Gen)
LNP — Laktase-Nicht-Persistenz/Laktase-nicht-persistent
LP — Laktase-Persistenz/Laktase-persistent
LPH — Laktase-Phlorizin-Hydrolase (Protein)

M — Milch
MCM6 — *Minichromosome Maintenance Complex Component 6* (Gen)
M HA — Milch mit Hefe-Alginat
M LA — Milch mit Laktase-Alginat
M LHA — Milch mit Laktase-Hefe-Alginat
MOs — Mikroorganismen (engl. *microorganisms*)
mRNA — Messenger-RNA
MT — Mischtyp (*Per3*$^{4/5}$)

NBDs — Nukleotidbindedomänen (NBD1 und NBD2)

NOS *Nature of science*
PCR Polymerasekettenreaktion (engl. *polymerase chain reaction*)
PER3 Period 3; Period circadian homolog 3, Circadian clock protein PERIOD 3 (Gen oder Protein)
PROP6 6-*n*-Propylthiouracil
PTC Phenylthiocarbamid

qRT-PCR Quantitative Echtzeit-Reverse-Transkriptions-PCR (engl. *real-time reverse transcription*)

RT Reverse Transkription

SCN Suprachiasmatischer Kern
SNPs Einzelnukleotidpolymorphismen (engl. *single nucleotide polymorphisms*)
STR *short tandem repeat*

TAE Tris-Acetat-EDTA
Taq *Thermus aquaticus*
TAS2R38 *Taste receptor type 2 member 38* (Gen oder Protein)
TBE Tris-Borat-EDTA
TF(s) Transkriptionsfaktor(en) (engl. *transcription factors*)
7TM Sieben Transmembranhelices
Tris Tris-(hydroxymethyl-)aminomethan
TT Homozygot (Genotyp); Schmecker (Phänotyp)
Tt Heterozygot (Genotyp); Moderater Schmecker (Phänotyp)
tt Homozygot (Genotyp); Nicht-Schmecker (Phänotyp)

VNTRs Längenpolymorphismen (engl. *variable number of tandem repeats*)



1

Einleitung

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_1

Biotechnologische Methoden wie die DNA-Analyse gehören seit Jahren zum Standard in der naturwissenschaftlichen Forschung und angrenzenden Disziplinen. Dennoch werden diese an Schulen hauptsächlich theoretisch unterrichtet und nicht experimentell erarbeitet. In diesem Buch werden Konzepte vorgestellt, wie biotechnologische Methoden schülerorientiert an Schulen in Unterrichtsräumen ohne aufwendige und kostenintensive Forschungslabore mit ihrer Ausstattung durchgeführt werden können. Die praktische Umsetzung kann dabei das Verständnis für komplexe Themen sowie biologische Basiskonzepte und Prinzipien fördern, die sich mithilfe molekularbiologischer Methoden bearbeiten lassen. Zusätzlich schult sie das wissenschaftsmethodische Verständnis und gibt tiefere Einblicke in den Berufsalltag eine*r Laborant*in bzw. Wissenschaftler*in. Alle hier vorgestellten Arbeitstechniken und Experimente sind so konzipiert, dass sie ohne zusätzliche Sicherheitsregularien außerhalb von professionellen Forschungslaboren an Schulen durchgeführt werden können.

Die Biotechnologie ist ein stark expandierender und multidisziplinärer fächerübergreifender Bereich. Daher ist es aus didaktischer Sicht zwingend, Schüler*innen bereits im Biologieunterricht mit diesen Methoden vertraut zu machen, damit diese die beruflichen Perspektiven in diesem Bereich realistisch einschätzen können. Zwar findet man molekularbiologisch und biotechnologisch orientierte Themenbereiche obligatorisch in den Lehrplänen der Sekundarstufen, jedoch sind Schulen aus Kostengründen selten so ausgestattet und Lehrkräfte derart fortgebildet, dass die Implementation der molekularbiologischen Praxis in den Unterricht selbstverständlich ist. Mit Blick auf einen biotechnologischen Wandel zur Lösung globaler Problemstellungen in Medizin sowie Ernährungs- und Agrarwissenschaften, haben wir als naturwissenschaftsdidaktischer Arbeitsbereich Anlass, praktische Arbeitstechniken und das wissenschaftsmethodische Vorgehen in diesem wichtigen und zukunftsorientierten Bereich zu stärken.

An lebensnahen Kontexten, z. B. am **circadianen Rhythmus** des Menschen oder an seiner bitteren Geschmackswahrnehmung, können sowohl (angehende) Lehrkräfte als auch Schüler*innen die Standardmethoden wie DNA-Extraktion, Polymerasekettenreaktion (PCR, engl. *polymerase chain reaction*), **Restriktionsverdau** und die Agarose-Gelelektrophorese mit Blick auf den Unterricht wiederholen bzw. im Biologieunterricht neu erlernen und üben. Schüler*innen können damit die Handhabung und Durchführung molekularbiologischer Arbeitstechniken in ihrem gewohnten schulischen Umfeld erfahren, womit sie sowohl auf die Anforderungen in einem naturwissenschaftlichen Studium vorbereitet werden, als auch ihre überfachlichen Kompetenzen (z. B. Kollaboration und Argumentation) stärken können. Darüber hinaus eigenen sich die Module ebenso für die *Lehrerbildung* und *-fortbildung* zur fachwissenschaftlichen und fachdidaktischen Reflexion und Vernetzung, um perspektivisch mehr molekularbiologische Praxis in den Biologieunterricht einzubringen. In diesen können Lehrkräfte die Module in ihren Schulen erproben und sich vergewissern, dass diese Methoden in ihren Fach- und Klassenräumen umgesetzt werden können. Lehrkräfte können gerne unsere Vorschläge nutzen, um gemeinsam mit Ihren Kolleg*innen in der Biologiefachschaft oder an benachbarten Schulen den Biologieunterricht im Sinne Ihres Schulprofils und -curriculums weiterzuentwickeln.

Die Umsetzung der hier vorgestellten biologischen Kontexte ist mit Blick auf die Reihenfolge und die didaktische Gestaltung sehr variabel, was eine individuelle Anpassung an die jeweilige Lernsituation in Ihrem Biologieunterricht ermöglicht. Diese betrifft sowohl die Einbindung der Arbeitstechniken und Experimente im Regelunterricht, bei der Umsetzung von Projekttagen oder im Rahmen von *Enrichment*-Programmen, als auch individuelle Schwerpunktsetzungen durch die Lehrkraft mit der Anpassung an das jeweilige Kompetenzniveau der Schüler*innen.

Als besonderes Schmankerl[1] für Sie als biotechnologisch interessierte Lehrkraft möchten wir Ihnen zum Abschluss dieses Buchs eine exemplarische Zusammenarbeit von Schule und Universität im Bundesland Bayern bei uns in der Region München vorstellen, um weitergehende Möglichkeiten für einen forschungsorientierten Biologieunterricht bzw. für zusätzliche Schülerforschungsprojekte zu illustrieren. An der Technischen Universität München (TUM) bieten wir interessierten Schüler*innen im Rahmen eines schulischen W-Seminars (Kap. ► 11) die Möglichkeit, einen noch tieferen Einblick in den Bereich der biotechnologischen Forschung an einer Universität zu gewinnen. Die Entscheidung der Schüler*innen hinsichtlich eines Studiums oder Ausbildung in diesem oder einem verwandten naturwissenschaftlichen Bereich kann dadurch erleichtert werden. Diese W-Seminare werden in enger Kooperation mit Lehrkräften durchgeführt und umfassen eine einwöchige, intensive praktische Betreuung im S1-Labor durch unsere Wissenschaftler*innen. Dieses Konzept haben wir in Zusammenarbeit mit dem Werner-Heisenberg-Gymnasium in Garching und Graf-Rasso-Gymnasium in Fürstenfeldbruck erprobt. Unser herzlicher Dank gilt an dieser Stelle den beiden Biologielehrerinnen **Julia Stich** und **Nina Ostermeier**. Frau Ostermeiers Erfahrungsbericht lesen Sie in ► Abschn. 11.4. Mit diesem Kooperationsmodell zwischen Schule und Universität zur *Schülerforschung* möchten wir Sie motivieren, in Ihrem schulischen Umfeld einmal Kontakte zur nächstgelegenen Universität oder wissenschaftlichen Einrichtung zu knüpfen. Bundesweit werden viele Schülerlabore und Schülerforschungszentren von Universitäten und wissenschaftlichen Einrichtungen betrieben, die insbesondere in den MINT-Fächern ein breites Spektrum an interessanten Themen für nahezu alle Jahrgangsstufen anbieten und Ihren Unterricht ganz individuell anreichern können.[2] Die Bildungspläne und Kerncurricula der verschiedenen Bundesländer sehen zumeist in der Oberstufe wissenschaftspropädeutische Kurse vor, in deren Rahmen sich eine solche Zusammenarbeit anbietet. Aber auch Arbeitsgemeinschaften oder der reguläre Unterricht bieten bereits in der Mittelstufe zahlreiche Anknüpfungspunkte zum naturwissenschaftlichen Arbeiten in Kooperation mit einer Hochschule.

Wir hoffen, mit diesen thematischen Vorschlägen und didaktischen Impulsen zum Biologieunterricht einerseits (angehende) Lehrkräfte auf solchen forschungspraktisch orientierten Unterricht vorzubereiten und andererseits naturwissen-

---

1 Schmankerl (bayr.): Leckerbissen, auch im übertragenen Sinn.
2 Schülerlabor-Atlas: ► https://www.schuelerlabor-atlas.de/.

schaftlichen Nachwuchs für diese zukunftsorientierten Fragestellungen zu interessieren und künftig noch besser rekrutieren zu können.

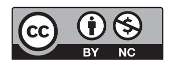
Zum Ende dieser Einleitung erlauben wir uns, Ihnen eine kleine Leseanleitung mit auf Ihren Weg durch einen praxisorientierten Unterricht für die Biotechnologie zu geben:

- Im *theoretischen Teil* (Kap. ► 2 und ► 3) greifen wir sowohl die biologischen Konzepte der Genetik und Evolution als auch die molekularbiologischen Arbeitstechniken auf, die sich wie ein *Roter Faden* durch dieses Buch ziehen und die in neuen, für die Schüler*innen interessanten lebensweltlichen Kontexten wiederholt werden. Auf diese Weise sollen sowohl die fachlichen Inhalte als auch die wissenschaftlichen Methoden vernetzt werden und den Schüler*innen ein kumulatives Lernen biologischer Konzepte in neuen Kontexten ermöglicht werden.
- Als Lehrkräfte können Sie sich allgemein im Kap. ► 4 einen Überblick über unsere didaktischen Hinweise zur Umsetzung der Module verschaffen. Fühlen Sie sich völlig frei, die Kontexte mit ihren experimentellen Untersuchungen und didaktischen Anregungen in den nachfolgenden Kapiteln der Praktischen Umsetzung mit Blick auf Ihre Schüler*innen und die Lernsituation an Ihrer Schule neu und anders zu kombinieren.
- Abschließend erhalten Sie mit dem *praktischen Teil* (Kap. ► 5, ► 6, ► 7, ► 8, ► 9, ► 10 und ► 11) konkrete Anleitungen für die Durchführung der hier allgemein besprochenen Arbeitstechniken in den Kontexten des jeweiligen Kapitels. Dabei baut sowohl die fachlich-inhaltliche Schwierigkeit der Kontexte als auch die Komplexität der eingesetzten Arbeitstechniken sukzessive aufeinander auf (► Tab. 4.2). Den didaktischen Empfehlungen für den Unterricht können Sie dann Hinweise zum Lehrplan und zur Kompetenzförderung sowie zur Schülerorientierung und zur methodischen Umsetzung im Biologieunterricht entnehmen.

Je nach Ihren fachlichen und wissenschaftsmethodischen Vorkenntnissen sowie Ihren persönlichen Interessen und mit Blick auf Ihre Schüler*innen können Sie getrost Kapitel auslassen oder ganz intensiv studieren. Verstehen Sie bitte dieses Buch mit seinem Online-Material für den Unterricht als Arbeitsmaterial, das Ihnen und Ihren Schüler*innen neue spannende Einsichten in die zukunftsweisende Biotechnologie und ihre (fast) grenzenlosen Möglichkeiten bescheren möchte. In diesem Sinne wünschen wir nun viel Spaß beim Lesen!

Zusammenfassung

In der Einleitung wird die Bedeutung der Biotechnologie und Molekularbiologie für die Gesellschaft und damit für die Schule dargestellt. Gleichzeitig führt das Kapitel in das Buch ein und erklärt, was Sie von dem Inhalt erwarten können: Kontextorientierte Module, die Sie befähigen, molekularbiologische Standardmethoden gemeinsam mit Ihren Schüler*innen in ihrem Klassenzimmer praktisch durchzuführen.


BY
NC



Fachwissenschaftlicher Hintergrund: Von der DNA zum Protein

Inhaltsverzeichnis

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_2

Zum besseren Verständnis der biotechnologischen Arbeitsweisen werden in diesem Kapitel genetische und biochemische Grundlagen von der DNA bis hin zum funktionsfähigen Protein kurz erklärt.

Lebende Organismen charakterisieren sich unter anderem dadurch, dass sie ihr Genom reproduzieren können und einen eigenen Energiestoffwechsel haben. In lebenden Organismen sind die funktionellen Eigenschaften von Zellen sowie Merkmale ihrer Vermehrung als genetische Information in der DNA gespeichert (Clark & Pazdernik, 2009, S. 32). Die physikalischen Positionen von Genen auf der DNA werden als ***Loci*** bezeichnet. Um die Reproduktion und den Energiestoffwechsel gewährleisten zu können, muss ein Organismus auf Grundlage der in seiner DNA kodierten Information Proteine synthetisieren können (Clark & Pazdernik, 2009, S. 32). Neben strukturgebenden Eigenschaften (z. B. Aufbau von Zellen) regulieren Proteine eine Vielzahl zellulärer Prozesse und sind als **Biokatalysator**en an Reaktionen des Energiestoffwechsels beteiligt. Membranproteine stellen durch Ausbildung von Transmembrankanälen die Kommunikation und den Austausch von Stoffwechselprodukten zwischen den Zellen sicher (Clark & Pazdernik, 2009, S. 32). Proteine zählen daher zu den wichtigsten Bestandteilen aller lebenden Organismen.

Für alle lebenden Organismen gilt im Sinne des zentralen Dogmas der Molekularbiologie, dass der Informationsfluss nur in eine Richtung erfolgt. Zunächst wird die Erbinformation der DNA in Messenger-RNA (mRNA) transkribiert, bevor diese in die Aminosäuresequenz eines Proteins übersetzt werden kann (Translation). Die Primärstruktur eines Proteins bildet damit das Bindeglied zwischen der genetischen Information der DNA und der biologischen Funktion des jeweiligen Proteins (Berg & Tymoczko, 2018, S. 44). Durch Ausbildung von Sekundär- und Tertiärstruktur enthält jedes Protein seine eigene charakteristische räumliche Struktur. Wesentliche Strukturmerkmale zu DNA, RNA und Proteinen sind in einschlägiger Grundlagenliteratur zu finden, z. B. in Stryer Biochemie (Berg & Tymoczko, 2018).

Allerdings ermöglichen moderne biotechnologische Methoden, jeden Schritt dieser „Einbahnstraße“ *in vitro* umzukehren. Dadurch ergeben sich eine Vielzahl neuer Informationsquellen, die für die Weiterentwicklung der Molekularbiologie und Bioinformatik ausschlaggebend waren (◘ Abb. 2.1). Beispielsweise können mit Hilfe von viralen Enzymen RNA-Sequenzen mittels Reverser Transkription (RT) in komplementäre DNA (cDNA, *complementary*) umgewandelt werden.

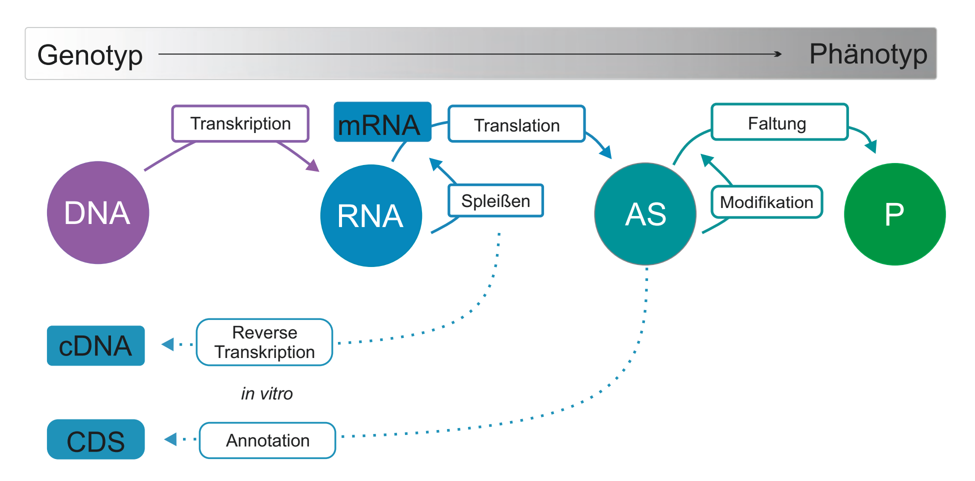


Abb. 2.1 Das Zentrale Dogma der Molekularbiologie. In lebenden Organismen sind die funktionellen Eigenschaften von Zellen sowie Merkmale ihrer Vermehrung als genetische Information in der DNA gespeichert (Clark & Pazdernik, 2009, S. 32). Um Proteine synthetisieren zu können, erfolgt zunächst die Transkription der DNA in mRNA, welche anschließend in ein Protein translatiert wird. *In vitro* sind zusätzliche Übertragungsformen möglich, die das Zentrale Dogma umkehren können, z. B. erfolgt in der Reversen Transkription die Gewinnung von cDNA ausgehend von RNA. AS = Aminosäuresequenz, P = Protein. Ferner können von der Aminosäuresequenz durch computergestütze Methoden (Annotation) kodierende DNA-Sequenzen (CDS) vorhergesagt werden

Zusammenfassung

Dieses Kapitel gibt Ihnen einen kurzen Einblick in die genetischen und biochemischen Grundlagen von der DNA bis zum funktionsfähigen Protein, um ein besseres Verständnis für die fachlichen Grundlagen der biotechnologischen Arbeitsweisen sicherzustellen.

Literatur

Berg, J. M., & Tymoczko, J. L. (2018). *Stryer Biochemie* (Bd. 8). Springer.
Clark, D., & Pazdernik, N. (2009). *Molekulare Biotechnologie: Grundlagen und Anwendungen*. Springer.



Methodische Grundlagen: Von der Entdeckung zur Nutzung der DNA

Inhaltsverzeichnis

Ergänzende Information Die elektronische Version dieses Kapitels enthält Zusatzmaterial, auf das über folgenden Link zugegriffen werden kann [https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_3]. Die Videos lassen sich durch Anklicken des DOI Links in der Legende einer entsprechenden Abbildung abspielen, oder indem Sie diesen Link mit der SN More Media App scannen.

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_3

Bei der Entdeckung der DNA im Jahr 1868 durch Friedrich Miescher war klar, dass es sich dabei um eine völlig neue Stoffklasse handeln musste (Onlineauftritt: Biospektrum)[1]. Es vergingen über 80 Jahre, bis Watson und Crick die Struktur der DNA aufgeschlüsselt hatten (Watson & Crick, 1953, S. 737–738). Viele Forschungsgruppen weltweit arbeiteten an verschiedenen Themenbereichen, die mit DNA zusammenhingen, z. B. der Aufklärung des Mechanismus der DNA-Replikation (Kresge et al., 2005). All diese kleinen Fortschritte wurden durch Kary Mullis zusammengetragen und führten zu seiner Entwicklung der *Polymerasekettenreaktion* (Polymerase Chain Reaction, PCR) 1983 (Mullis et al., 1994). Diese technische Entwicklung sorgte in der genetischen Forschung für einen gewaltigen Sprung und bereitete den Weg für viele neue Wissenschaftsfelder, da es erstmalig möglich war, in kurzer Zeit ausreichend DNA für weitere Analyseschritte zur Verfügung zu stellen.

Heutzutage findet die PCR in der medizinischen Diagnostik, der Forensik und für Analysen im Bereich der molekularen Evolution Anwendung. Das Design spezifischer **Primer** ermöglicht die Detektion von Bakterien und Viren bei Patienten. Beispielsweise können Zellen von *Mycobacterium tuberculosis* in Gewebeproben nur sehr schwer nachgewiesen werden. Durch PCR können 10 Tuberkelbazillen unter einer Million menschlicher Zellen aufgespürt werden (Berg & Tymoczko, 2018, S. 172). Auch in der Krebstherapie findet diese Methode Anwendung, z. B. bei der Behandlungsüberprüfung bestimmter Leukämien (van Dongen et al., 1999), indem der Anteil eines mutierten Gens auf alle weißen Blutkörperchen bestimmt werden kann (Moravcová & Brdicka, 2005). Seit der weltweiten Ausbreitung des SARS-CoV-2-Virus ist die PCR-Methode häufiger in den Medien vertreten. Innerhalb der bis heute verfügbaren diagnostischen Verfahren (z. B. Detektion des viralen Gens oder Antigens) hat sich die Gendetektion des Virus mittels qRT-PCR (quantitative Echtzeit-Reverse-Transkriptions-PCR) als zuverlässigste Methode erwiesen (Sule & Oluwayelu, 2020; Yüce et al., 2021). Zusätzliche Informationen zur Weiterentwicklung der PCR zur qRT-PCR finden Sie im nächsten Abschnitt.

3.1 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die Polymerasekettenreaktion ist heutzutage die gebräuchlichste Methode, um die Erbsubstanz DNA *in vitro* zu vervielfältigen. In der Praxis findet die PCR meist Anwendung, um ein Zielgen oder spezielles Fragment der DNA zu amplifizieren. Die PCR setzt dabei die Funktion der DNA-Polymerase für den Vervielfältigungsprozess ein. Als Startpunkt für die Polymerase werden für die Zielregion spezifische Primer-Paare verwendet. Hierbei handelt es sich um einzelsträngige Oligonukleotide, die meist aus 20–30 Nukleotiden aufgebaut sind und damit die Vervollständigung der komplementären Stränge in beide Richtungen initiieren. Bei

1 Onlineauftritt Biospektrum: ► https://www.biospektrum.de/magazinartikel/die-entdeckung-der-dna?dl=1.

der Wahl der verwendeten Primer wird darauf geachtet, dass die Schmelztemperaturen beider Primer gleich hoch sind (ungefähr zwischen 60 °C und 75 °C). Der Vorwärts-Primer ist dabei komplementär zum Start der **Zielsequenz**, der Rückwärts-Primer ist komplementär zum Ende der Zielsequenz.

Für die PCR-Reaktionen können je nach Ziel des Experiments verschiedene DNA-Polymerasen verwendet werden, die sich in Ihrer Thermostabilität und Fehlerrate unterscheiden. Standardmäßig wird eine *Taq*-DNA-Polymerase verwendet, die aus dem thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus* gewonnen wird und ein recht hohes Temperaturoptimum von 72 °C hat. Der Ablauf der PCR ist in ◘ Abb. 3.1 dargestellt. Im ersten Schritt der Reaktion wird die DNA zunächst denaturiert (*melting*), danach erfolgt die Anlagerung der Primer an das 3‘- Ende der jeweiligen Stränge (*annealing*), gefolgt von der abschließenden Synthese (*elongation*) des jeweiligen Komplementärstrangs durch eine hitzestabile Polymerase. Die DNA-Synthese erfolgt dabei stets in 5‘–3‘-Richtung.

Jeweils ein solcher Zyklus bedingt die Verdopplung der Zielsequenz. Im Idealfall können mittels PCR durch die wiederholte Verdopplung nach 30 Zyklen in weniger als einer Stunde mehr als eine Milliarde Kopien erzeugt werden (2^{30} = 1.073.741.824, allgemein: 2^n, n = Anzahl an Zyklen). Theoretisch ist der Verlauf einer PCR exponentiell. In der Praxis gibt es allerdings limitierende Faktoren, z. B. die Menge und Verfügbarkeit der eingesetzten Primer, sowie die Prozessivität der Polymerase, wodurch eine exponentielle Vermehrung des PCR-Produkts nur über einen bestimmten Zeitraum gewährleistet ist. Da für die Reaktion ein Primerüberschuss verwendet wird, kann ausgeschlossen werden, dass sich der DNA-Doppelstrang wieder zusammensetzt, ohne vervielfältigt zu werden.

Vorteile dieser Methode (Berg & Tymoczko, 2018, S. 172):

- Für die Vervielfältigung eines gewünschten Fragments ist Kenntnis über die flankierenden Sequenzen ausreichend.
- Die Zielsequenz kann erheblich länger sein als die Primer.
- Sehr spezifische Methode, da die Hybridisierung bei relativ hohen Temperaturen stringent erfolgt.
- Die Stringenz kann durch Variation der Temperatur und Salzkonzentration beeinflusst werden.
- Hohe Empfindlichkeit, da ein einziges DNA-Molekül mittels PCR vermehrt und anschließend nachgewiesen werden kann. Schauen Sie sich das zugehörige Video zum Ablauf einer PCR an (◘ Abb. 3.1).

Auch die PCR entwickelte sich weiter und ermöglicht mittlerweile, eine quantifizierbare Aussage über die Genexpression zu treffen. Auch wird sie aktuell als Goldstandard in der Detektion von viraler SARS-CoV-2-RNA eingesetzt (Yüce et al., 2021). Dabei unterscheiden sich einige Schritte: Für die Analyse der Genexpression in der Zelle wird heutzutage die Methode der quantitativen RT-PCR angewendet (qRT-PCR). Im ersten Schritt wird die isolierte mRNA mittels Reverser Transkriptase in cDNA umgeschrieben. Es liegt daher eine direkte Proportionalität zwischen dem Ausgangsmaterial mRNA und der entstandenen cDNA vor. Die cDNA wird dann in einer gewöhnlichen PCR amplifiziert.

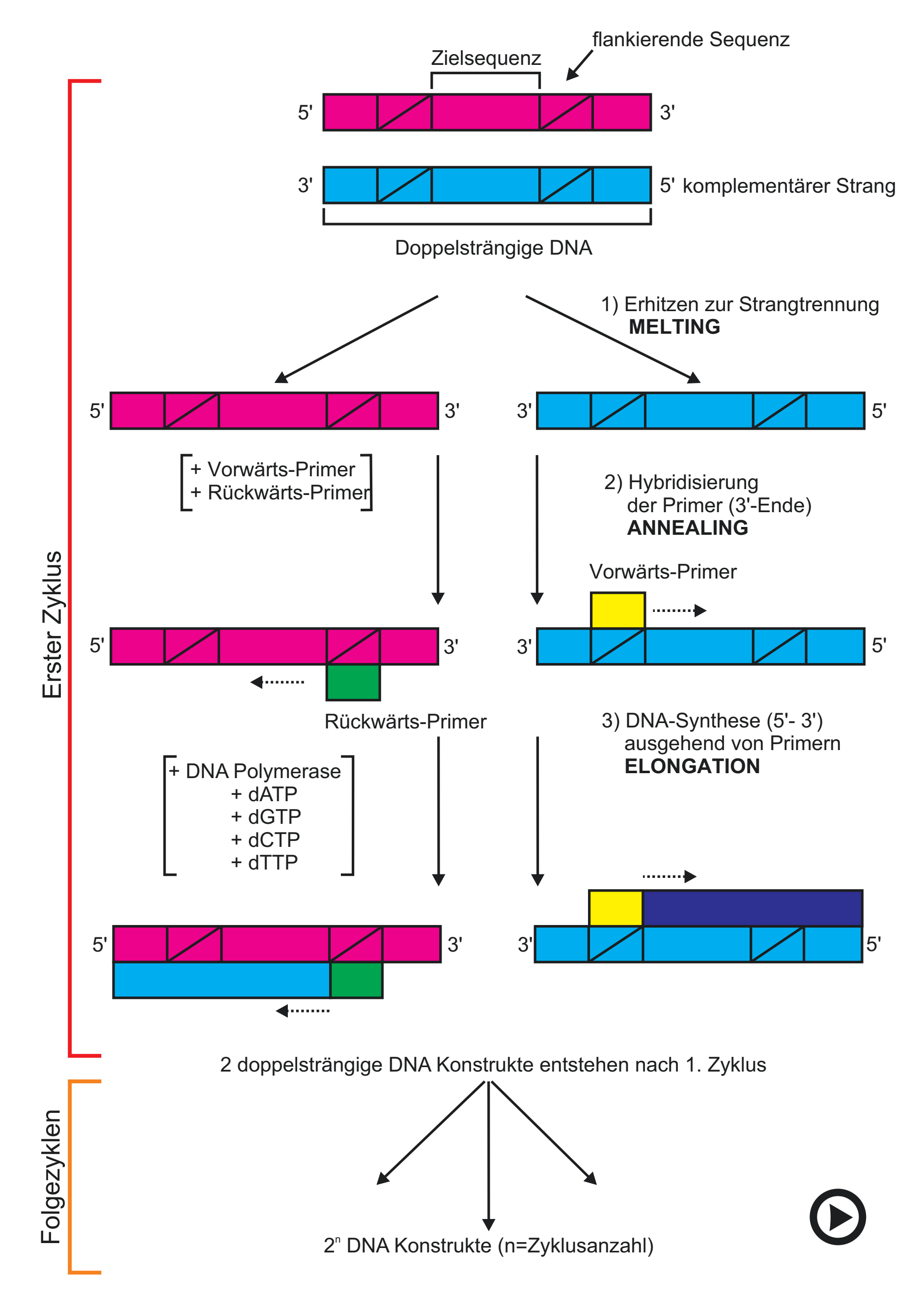


Abb. 3.1 **Schematischer Ablauf der PCR.** Grundsätzlich kann die PCR in drei Hauptschritte *melting*, *annealing* und *elongation* eingeteilt werden. Die Hybridisierung der Primer findet stets am 3'-Ende der jeweiligen DNA-Stränge statt. Die DNA-Polymerase synthetisiert dann die komplementären DNA-Stränge. Die Elongation erfolgt dabei immer in 5'–3' Richtung. Pro PCR-Zyklus können so 2^n doppelsträngige DNA Konstrukte gebildet werden (► https://doi.org/10.1007/000-6fs)

Vorteil der quantitativen PCR ist es, dass die aktuelle Menge an DNA während der PCR-Reaktion, durch Zugabe eines fluoreszierenden Farbstoffs, verfolgt werden kann. Durch Anlagerung des Interkalationsfarbstoffs an doppelsträngige DNA kann das entstehende Fluoreszenzsignal im RT-PCR-Zykler ausgelesen werden. In Abhängigkeit zu der vorhandenen Menge an mRNA Kopien eines Gens zu Beginn der RT-PCR kann ein schneller oder langsamer Anstieg des Fluoreszenzsignals während der PCR-Reaktion beobachtet werden. Somit können anhand des detektierten Signals Rückschlüsse bzgl. der mRNA-Kopienzahl und folglich über die Expressionsstärke eines bestimmten Gens getroffen werden.

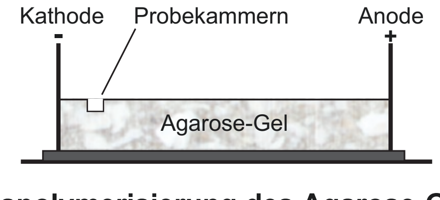
3.2 Agarose-Gelelektrophorese

Diese Methode erlaubt es, DNA-Fragmente anhand ihrer Größe im elektrischen Feld aufzutrennen (◘ Abb. 3.2). Aufgrund der negativ geladenen Phosphatgruppen der DNA erfolgt eine Wanderung der DNA zur Anode hin. Die Auftrennung ist möglich, da kleinere DNA-Moleküle schneller durch die Agarose-Gel-Matrix wandern als größere. Durch das hohe Auflösungsvermögen können sogar Fragmente getrennt werden, die aus mehreren Hundert Nukleotiden bestehen und sich in der Länge nur um ein einziges Nukleotid unterscheiden (Berg & Tymoczko, 2018, S. 166).

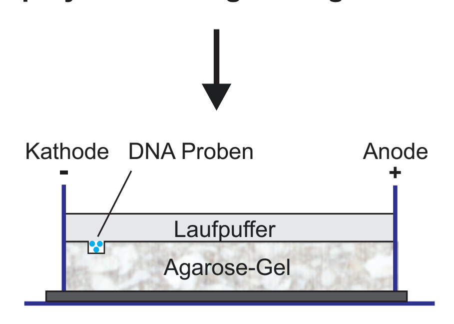
Die Agarosekonzentration zur Auftrennung von DNA-Fragmenten orientiert sich an deren Länge. Je höher der prozentuale Anteil an Agarose ist, desto kleinere DNA-Fragmente können getrennt werden. So ist es üblich, mit 0,7 %-igen Gelen bei Fragmentlängen von 0,5–10 Kilobasen (kb) zu arbeiten und 2 %-ige Gele bei Fragmentlängen von 0,1–1 kb zu verwenden. Die Anfärbung der DNA wird durch Zugabe eines Interkalationsfarbstoffs zur Agarose erreicht, welcher sich über den Verlauf der Elektrophorese an die DNA anlagert. Erfolgt die Visualisierung der DNA-Banden mittels UV-Licht, wird ein Fluoreszenzfarbstoff verwendet. Standardmäßig erfolgt die Auftrennung in Tris-Acetat-EDTA-Puffer (TAE-Puffer) bei einer konstanten Spannung von 80–120 V, i. d. R. meist 30 min bei 100 V. Anschließend kann die DNA auf einem UV-Leuchtschirm betrachtet werden. Eine Größenabschätzung der DNA-Fragmente wird durch zusätzliche Auftrennung eines DNA-Längenstandards mittels Elektrophorese möglich. Sehen Sie sich das zugehörige Video an (Abb. 3.2).

▶ Längenpolymorphismen

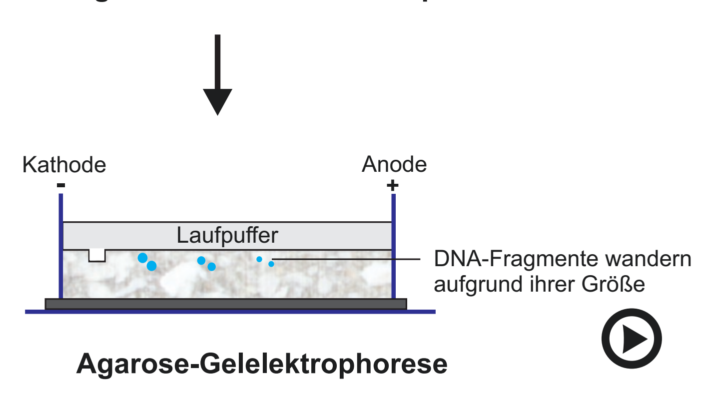
Um einen Längenpolymorphismus innerhalb eines DNA-Abschnitts nachzuweisen, reicht eine Kombination aus PCR und Agarose-Gelelektrophorese. Längenpolymorphismen bilden die Grundlage des genetischen Fingerabdrucks, dabei werden sogenannte VNTRs (engl. *variable number of tandem repeats*) untersucht (▶ Kap. 7). Ein **Polymorphismus** bezeichnet einen Ausprägungsunterschied zwischen zwei oder mehreren Individuen. Auf DNA-Ebene können Längenpolymorphismen durch Insertionen oder Deletionen von einer Base oder ganzer Sequenz-Abschnitte entstehen. ◀



Auspolymerisierung des Agarose-Gels



Vorbereitetes Agarose-Gel in Gelelektrophoresekammer



Agarose-Gelelektrophorese

Abb. 3.2 **Auftrennung von DNA mittels Agarose-Gelelektrophorese.** Im elektrischen Feld wandern DNA-Fragmente aufgrund ihrer negativ geladenen Phosphatgruppen zur Anode und können so nach ihrer Größe aufgetrennt werden. Kleinere DNA-Moleküle wandern dabei schneller durch die Agarose-Gel-Matrix (► https://doi.org/10.1007/000-6fr)

3.3 Restriktionsverdau

Ein enzymatischer Restriktionsverdau kann vielseitig eingesetzt werden, da durch die jeweiligen Schnittstellen eine sehr genaue Planung möglich wird. Restriktionsenzyme erkennen eine spezifische Basenabfolge innerhalb eines Nukleinsäurestrangs und spalten diese auf charakteristische Weise. Die Erkennungssequenzen sind aus vier bis acht Nukleobasen aufgebaut und meist palindromisch, d. h. komplementär rückwärts gelesen ergibt sich die gleiche Basenfolge. Je nach Zielsetzung werden für den Restriktionsverdau eines oder zwei Restriktionsenzyme verwendet. Herkömmlich wird die Reaktion bei 4 °C über Nacht durchgeführt. Die Spaltung

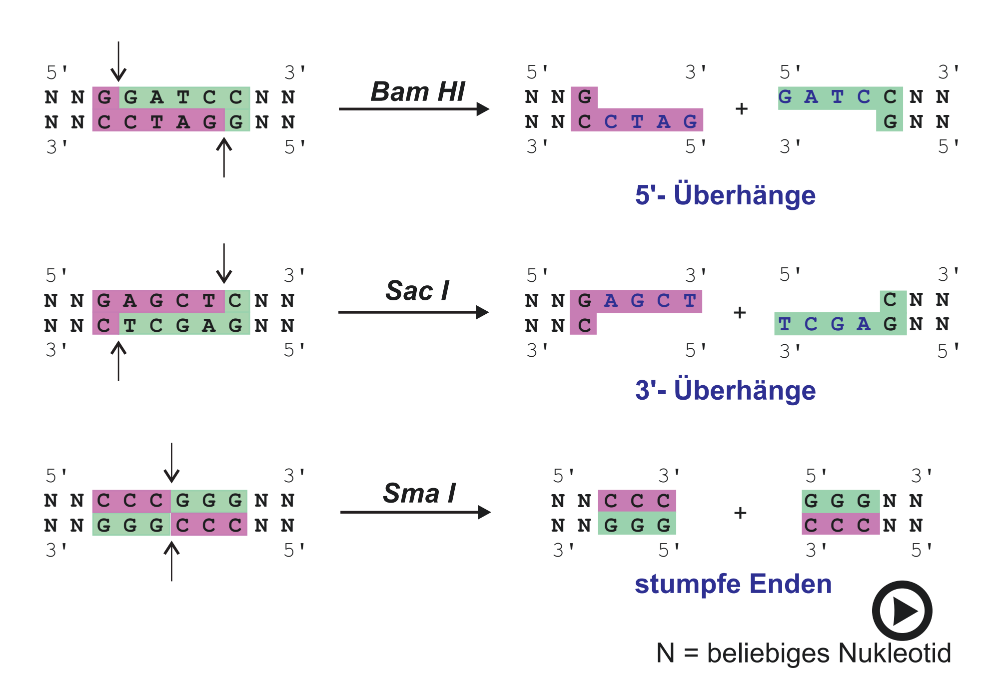


Abb. 3.3 Entstehung unterschiedlicher DNA-Enden abhängig vom Restriktionsenzym. Es wird zwischen kohäsiven (*sticky ends*) mit 5'- oder 3'-Überhängen sowie stumpfen Enden (*blunt ends*) unterschieden. Die Pfeile markieren, an welcher Position das jeweilige Restriktionsenzym schneidet (► https://doi.org/10.1007/000-6ft)

erfolgt an der Phosphodiesterbrücke. Je nach verwendetem Restriktionsenzym können drei verschiedene Typen von DNA-Enden entstehen (Abb. 3.3).

Bei der Erzeugung von kohäsiven Enden (*sticky ends*) entstehen 5'- oder 3'-Überhänge. Stumpfe Enden (*blunt ends*) werden z. B. durch das Restriktionsenzym *Sma* I erzeugt. Das Video zur Veranschaulichung der verschiedenen Schnittweisen finden Sie integriert in Abb. 3.3. Aufgrund dieser Präzision eignet sich der Restriktionsverdau auch für eine DNA-Analyse basierend auf **Einzelnukleotidpolymorphismen** (***single nucleotide polymorphisms*, SNPs**). Darauf wird in den Kap. ► 8 und ► 9 im Kontext der bitteren Geschmackswahrnehmung und **Laktoseunverträglichkeit** im Detail eingegangen.

► Einzelnukleotidpholymorpismen

Der Restriktionsverdau findet häufig Anwendung, um SNPs zu detektieren. In den hier vorgestellten Kontexten werden SNPs mit unterschiedlichen Auswirkungen untersucht. Erstens beeinflusst ein SNP das aktive Zentrum eines Proteins und schränkt seine Funktionalität ein (Kap. ► 8). Zweitens beeinflusst ein SNP die regulatorische Einheit auf DNA-Ebene und beeinflusst die Genexpression (► Kap. 9). In der Kombination verdeutlichen beide Module, wie SNPs für den genetischen Fingerabdruck genutzt werden können: Durch die hohe Mutationsrate in bestimmten Abschnitten der DNA kön-

nen durch SNPs entweder Restriktionsschnittstellen entstehen (► Kap. 8) oder zerstört werden (► Kap. 9). Bei der Amplifizierung (PCR) mit anschließendem Restriktionsverdau entstehen bei jedem Individuum unterschiedliche Fragmentlängen, die auf dem Agarose-Gel zur Identifikation genutzt werden können. SNPs sind die häufigste Mutationsform der DNA (Kim & Misra, 2007). Aktuell geht die Wissenschaft von einem SNP alle 200 bis 1000 Basenpaare (bp) (Shastry, 2009) des menschlichen Genoms aus. Bei einem SNP ändert sich nur eine Nukleobase, was Auswirklungen auf das Gen, z. B. Regulation, oder das resultierende Protein, z. B. Funktionalität, haben kann, aber nicht muss. ◄

Zusammenfassung

Dieses Kapitel gibt einen Überblick über gängige molekularbiologische Methoden, die im Rahmen der vorgestellten Kontexte praktisch im Unterricht durchgeführt werden können. Bei der Auswahl wurde auf den gängigen Sicherheitsstandard an den Schulen geachtet, sodass für die Durchführung kein S1-Labor nötig ist. Die bereits länger in der Forschung etablierten Standardmethoden können so kontextorientiert im Klassenzimmer erprobt werden.

Literatur

Berg, J. M., & Tymoczko, J. L. (2018). *Stryer Biochemie* (Bd. 8). Springer.

van Dongen, J. J., Macintyre, E. A., Gabert, J. A., Delabesse, E., Rossi, V., Saglio, G., … Biondi, A. (1999). Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED-1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. *Leukemia, 13*(12), 1901–1928. https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401592

Kim, S., & Misra, A. (2007). SNP genotyping: Technologies and biomedical applications. *Annual Review of Biomedical Engineering, 9*, 289–320. https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.9.060906.152037

Kresge, N., Simoni, R. D., & Hill, R. L. (2005). Arthur Kornberg's discovery of DNA polymerase I. *Journal of Biological Chemistry, 280*(49), e46–e48. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)59088-1

Moravcová, J., & Brdicka, R. (2005). Deset let molekulárního monitorování chronické myeloidní leukémie metodou kvantitativní RT-PCR. [Ten years of molecular monitoring of chronic myeloid leukemia by quantitative RT-PCR]. *Casopis Lekaru Ceskych, 144*(1), 32–37.

Mullis, K. B., Ferré, F., & Gibbs, R. A. (1994). *The polymerase chain reaction*. Birkhäuser.

Shastry, B. S. (2009). SNPs: Impact on gene function and phenotype. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 578*, 3–22. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_1

Sule, W. F., & Oluwayelu, D. O. (2020). Real-time RT-PCR for COVID-19 diagnosis: Challenges and prospects. *The Pan African Medical Journal, 35*(Suppl 2), 121. https://doi.org/10.11604/pamj.supp.2020.35.24258

Watson, J. D., & Crick, F. (1953). Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid, *171*(4356), 737–738.

Yüce, M., Filiztekin, E., & Özkaya, K. G. (2021). COVID-19 diagnosis – A review of current methods. *Biosensors & Bioelectronics, 172*, 112752. https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112752


BY
NC



Fachdidaktischer Hintergrund: Gestaltung eines innovativen Biologieunterrichts

Inhaltsverzeichnis

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_4

Da zur Planung gelungener Unterrichtskonzepte neben den Fachinhalten und Arbeitsweisen auch didaktische Überlegungen gehören, finden Sie in diesem Kapitel Anregungen zu verschiedenen didaktischen Bereichen.

4.1 Lehrplan und Kompetenzorientierung

Der thematische Aufbau der Bildungspläne und Kerncurricula unterscheidet sich je nach Bundesland, gleichwohl wurde durch die Einführung der Bildungsstandards für den Mittleren Schulabschluss und für das Abitur (Kultusministerkonferenz, 2005, 2020) erreicht, dass die Kompetenzen von Schüler*innen in den naturwissenschaftlichen Unterrichtsfächern in vier bundeseinheitlichen Kompetenzbereichen Fachwissen, Erkenntnisgewinnung, Kommunikation und Bewertung an ausgewählten Beispielen der Bildungspläne gefördert werden sollen. Damit richtet sich der Fokus des Biologieunterrichts nicht mehr allein auf den Erwerb von in neuen Kontexten anwendbaren Fachkonzepten, sondern gleichfalls auf das Verständnis der wissenschaftlichen Methoden und der Erkenntnistheorie.

Um der Heterogenität der Schüler*innen gerecht zu werden und die Kompetenzen valide überprüfen zu können, sollten Aufgaben für den Unterricht und zu Prüfungszwecken abgestufte Schwierigkeiten aufweisen. Zur Orientierung dienen die *Anforderungsbereiche* in den Einheitlichen Prüfungsanforderungen im Abitur (Kultusministerkonferenz, 2004) und den Bildungsstandards (Kultusministerkonferenz, 2005, 2020); sie beschreiben Aufgabenschwierigkeiten in den vier Kompetenzbereichen. Unterschieden werden drei Niveaus: Der *Anforderungsbereich I* fordert die Reproduktion von Sachverhalten, Methoden und Fertigkeiten. Mit Aufgaben des *Anforderungsbereichs II* sollen Sachverhalte, Methoden und Fertigkeiten in einem neuen Zusammenhang genutzt werden (Reorganisation). Mit dem *Anforderungsbereich III* wird ein Wissenstransfer gefordert, bei dem Sachverhalte auch unter Einbezug des Vorwissens neu erarbeitet und reflektiert sowie bereits erlernte Methoden und Fertigkeiten eigenständig angewendet werden sollen (z. B. Kultusministerkonferenz, 2005, S. 16). Kennzeichnend für die Anforderungsbereiche II und III ist damit die Anwendung von Wissen in neuen Kontexten, die über die reine Reproduktion bekannter Sachverhalte hinausgeht.

Mit den Abschnitten *Lehrplan und Kompetenzorientierung* stehen daher ausgehend von den biologischen Basiskonzepten (Kultusministerkonferenz, 2004, 2020) fachliche Konzepte und Prinzipien im Mittelpunkt, die Anknüpfungspunkte für das Lernen in komplexen alltagsbezogenen Kontexten erleichtern und die wiederholte Anwendung in weiteren biologischen Themenbereichen ermöglichen sollen.

Themenbereiche auf einen Blick

- Genetik und Gentechnik
- Evolution
- Energiestoffwechsel
- Ernährung und Verdauung
- Proteinchemie (Enzymkinetik)

Der zentrale biologische Themenbereich aller hier vorgestellter Module ist im Sinne der Fachsystematik die Genetik. Entsprechend können unsere Module am leichtesten curricular valide in den Unterricht eingebunden werden, wenn diese Thematik lt. Bildungsplan der Mittel- und Oberstufe alljährlich auf der Agenda steht. Häufig werden bereits in der Mittelstufe genetische Grundbegriffe sowie Struktur- und Funktionsprinzipien thematisiert. Für jüngere Schüler*innen eignen sich daher besonders die Module *Tatort DNA* (► Kap. 6) und *Taste Impossible* (► Kap. 8), da die genetischen Grundlagen, auf denen die beiden Module basieren, vergleichbar sind. *Tatort DNA* ist durch das vereinfachte Methodenspektrum, bestehend aus PCR und Agarose-Gelelektrophorese an vorgefertigten DNA-Proben, praktisch auch gut mit jüngeren Schüler*innen durchführbar. Im Sinne der vertikalen Vernetzung von Wissen (Wadouh et al., 2009) kann eine wiederholte Implementation der neuen Methoden in zwei unterschiedlichen Kontexten durchaus sinnvoll sein, bei der in niedrigeren Jahrgangsstufen in die Thematik eingeführt wird und in höheren Jahrgangsstufen eine tiefere Reflexion sowohl der fachwissenschaftlichen Hintergründe als auch der praktischen Arbeitstechniken und des wissenschaftsmethodischen Zugangs (Mayer, 2007) erfolgt.

In allen Modulen in diesem Buch wird die genetische Variation adressiert, um die Vielfalt der Lebewesen am menschlichen Körper zu verdeutlichen und damit gleichzeitig die Variation innerhalb einer Spezies zu reflektieren. Die zusätzliche Verknüpfung von Genetik und Evolution kann zum tiefergehenden Verständnis beitragen (Baalmann et al., 2004), dafür eignen sich im Besonderen die Module *Eat, Sleep, Repeat* (► Kap. 7) und *Food Wars Episode I* (► Kap. 9).

Um die lebensweltlichen Bezüge zu betonen, kann der Zugang zu den Arbeitstechniken über multifaktorielle Erkrankungen und deren Auswirkungen auf der phänotypischen Ebene hergestellt werden. Dazu eignen sich im Besonderen die Module *Tatort DNA* (Bitam et al., 2015) (► Kap. 6) und *Food Wars Episode I* (► Kap. 9). Alternativ kann beim Modul *Food Wars Episode II* (► Kap. 10) der chemische Zugang zur Thematik über die Enzymkinetik und Proteinchemie erfolgen.

Die folgende Tabelle (◘ Tab. 4.1) zeigt die verschiedenen Basiskonzepte der Biologie, wie sie im Bayerischen Lehrplan definiert sind, im Kontext der hier präsentierten Module (S. f. S. u. B. ISB, 2022).

◘ Tab. 4.1 Darstellung verschiedener Möglichkeiten, die bayerischen Basiskonzepte Biologie mit den vorgestellten Modulen zu adressieren (S. f. S. u. B. ISB, 2022)

Basiskonzept	Anwendung im Modul
Struktur – Eigenschaft – Funktion	***Tatort DNA*** (Mukoviszidose)***:* Mutation**en verändern die Eigenschaften eines Ionenkanals, was unterschiedliche Einflüsse auf seine Funktionalität hat, die sich nachfolgend in Symptomen der Krankheit äußern (► Kap. 6) ***Eat, Sleep, Repeat****:* Längenpolymorphismus auf DNA-Ebene (*Period 3* (*PER3*)) verändert die Proteinstruktur (PER3) und verlangsamt dadurch dessen Abbau (► Abb. 7.10). ***Taste Impossible:*** Veränderung der Rezeptorstruktur durch eine Mutation führt zu veränderten Bindemodalitäten (► Abschn. 8.5). ***Food Wars Episode I und II:*** Verdauungsenzyme sind im Darm abschnittsorientiert angeordnet und haben Einfluss auf Lebensmittelunverträglichkeiten, Laktase-Phlorizin-Hydrolase als Beispiel (► Abschn. 9.5.1).

(Fortsetzung)

Tab. 4.1 (Fortsetzung)

Basiskonzept	Anwendung im Modul
Kompartimentierung	Da Mutationen auf DNA-Ebene in den hier vorgestellten Szenarien Einfluss auf die Proteinfunktion haben, kann die Trennung von Zellkern (Lokalisation der DNA) und den Wirkungsorten der Proteine bereits zur Reflexion der Kompartimentierung anregen. ***Eat, Sleep, Repeat****:* Die molekulare innere Uhr dient der körperweiten Synchronisation. Die Kompartimentierung zwischen Zellkern und Zytoplasma ist eine zwingende Voraussetzung für die Funktionsweise der molekularen Uhr. Wäre diese nicht vorhanden, könnten die **Transkriptionsfaktor**en unmittelbar wirken und nicht erst, wenn sie nach ihrer Anreicherung im Zytoplasma in den Zellkern zurücktransportiert werden (s. ► Abb. 7.9).
Steuerung und Regulierung	***Eat, Sleep, Repeat****:* Das Modul thematisiert die Steuerung von Stoffwechselprozessen in Abhängigkeit von der inneren Uhr. ***Food Wars Episode I:*** Die hier behandelte Mutation liegt in einer regulatorischen Einheit und eignet sich aufgrund ihres epigenetischen Charakters sowie der differenziellen Genexpression besonders gut als Beispiel für dieses Basiskonzept (Abb. ► 9.12 und ► 9.13).
Information und Kommunikation	Alle Module basieren auf der DNA als Träger genetischer Information. ***Taste Impossible****:* Die bittere Geschmackswahrnehmung als Kommunikationsmittel für potenziell gefährliche Nahrungsmittel passt in diesen Kontext besonders gut (► Kap. 8) ***Eat, Sleep, Repeat****:* In dem Kontext kann die Informationsweitergabe, z. B. der Tageszeit, über den suprachiasmatischen Kern zusätzlich zur genetischen Regulierung thematisiert werden.
Reproduktion	Die genetischen Grundlagen aller Module eignen sich zur Erarbeitung oder Wiederholung Mendel 'scher Regeln sowie der Reflexion von Mutationen, ihrer unterschiedlichen Ausprägungen auf Gen- oder Chromosomenebene sowie deren evolutionäres Bestehen. ***Food Wars Episode I:*** Da es sich hier um eine humangeschichtlich junge Mutation handelt, eignet sich dieses Modul besonders, um die Reproduktion im Kontext der Evolution zu besprechen. Hier würde sich auch der Ebenenwechsel von Individuum zu Art anbieten, um die damit verbundenen Präkonzepte zu adressieren (► Abschn. 9.6.2).
Variabilität und Angepasstheit	Jedes der Module eignet sich, um genetische Variabilität zu demonstrieren. ***Eat, Sleep, Repeat****:* Schüler*innen verbinden mit „Anpassung" häufig einen bewusst gesteuerten Prozess und beziehen den Ort der Anpassung auf ein Individuum, anstatt einer Population. Als Beispiel kann hier die individuelle Anpassung des Tagesrhythmus bei einem Jetlag durch die molekulare Antwort auf veränderten Lichteinfall bei der evolutionären Anpassung im Sinne der Entwicklung eines molekularen Mechanismus in Mehrzellern entgegengestellt werden (► Abschn. 7.6.2 und ► 4.2.1.2) ***Food Wars Episode I:*** Die Fähigkeit, Laktose im Erwachsenenalter verdauen zu können, ist eine stammesgeschichtlich junge Mutation und eignet sich deshalb besonders gut als Beispiel für Evolution als kontinuierlichen Prozess, der auch heutzutage noch stattfindet.

■ **Tab. 4.1** (Fortsetzung)

Basiskonzept	Anwendung im Modul
Geschichte und Verwandtschaft	Für die Reflexion dieses Basiskonzepts in einem größeren Kontext eignen sich vor allem die Module ***Taste Impossible*** und ***Food Wars Episode I***, da die Funktionalität der betreffenden Enzyme einen alltäglich erfahrbaren Einfluss haben, einmal die bittere Geschmackswahrnehmung als Warnsystem sowie die Laktose-Verdauung von Säugetiernachkommen.

4.2 Schülerorientierung

4.2.1 Schülervorstellungen: Fehleranfälligkeit des Denkens

Die Ursache für Denkfehler zu verstehen, ist pädagogisch wertvoller als ein bloßes Erkennen derselben (Kattmann, 2015). Es können vier zentrale Denkkonzepte definiert werden (Kattmann, 2015):
- Ein unwillkürliches Übertragen des Bekannten auf das Unbekannte.
- Dichotomes Denken.
- Bildung von Typen.
- Fixierung auf Zustände anstelle von Prozessen.

Seit einigen Jahren vollzieht sich in der Didaktik ein Perspektivenwechsel weg von der Einstellung, fachlich inkorrekte Vorstellungen von Schüler*innen seien lernhinderlich, hin zur aktiven Nutzung ebendieser Vorstellungen als Lernhilfen (Kattmann, 2015). Schülervorstellungen sind bedeutsam, da sie ihre Erklärungskraft im Alltag bewährt haben (Gropengießer, 2016; Hörsch & Kattmann, 2005). Es konnte nachgewiesen werden, dass Anthropomorphismen das Lernen biologischer Sachverhalte erleichtern und der Lernerfolg größer und nachhaltiger ist, wenn Alltagsvorstellungen bzw. Fehler im Unterricht angesprochen und reflektiert werden (Kattmann, 2005b, 2015). Perspektiven der Lernenden mit fachlich geklärten Konzepten in Beziehung zu setzen, hilft im Sinne der Didaktischen Rekonstruktion dabei, lernförderlichen Unterricht zu konstruieren (Kattmann, 2005a). Im Folgenden werden daher Schülervorstellungen beleuchtet, die Einfluss auf das Verständnis der hier vorgestellten fachlichen Sachverhalte haben können.

4.2.1.1 Genetik und Vererbung

Schüler*innen fällt es schwer, zwischen Genotyp und Phänotyp zu unterscheiden (Kattmann, 2005b; Lewis & Kattmann, 2004). ■ Abb. 4.1 verdeutlicht die komplexen Zusammenhänge von Genotyp und Phänotyp und deren Verknüpfung über die drei verschiedenen Analyseschritte DNA-Extraktion, PCR und Agarose-Gelelektrophorese.

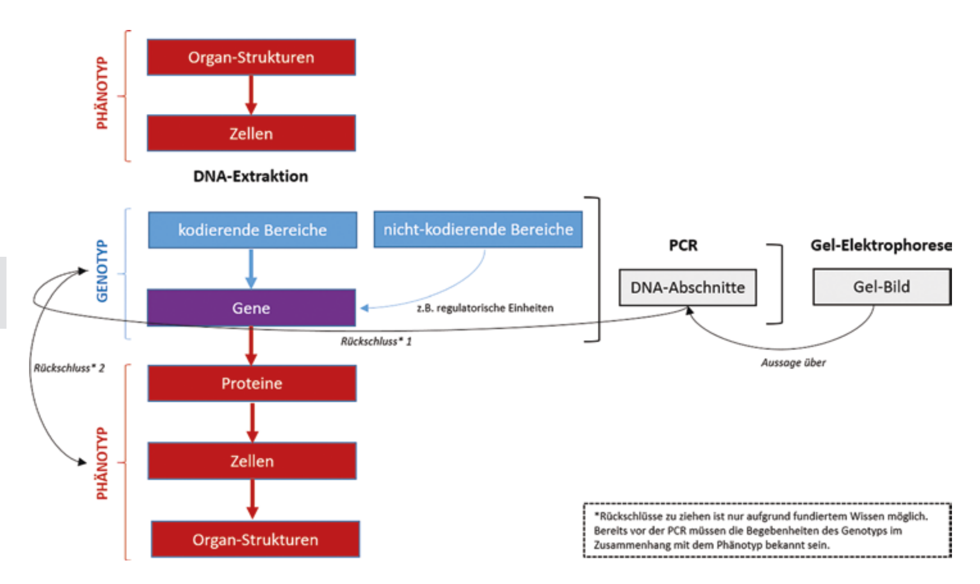


Abb. 4.1 Darstellung der Zusammenhänge zwischen genetischen und phänotypischen Grundlagen sowie deren Verknüpfung mit molekularbiologischen Methoden. Der Ebenenwechsel (Genotyp – Analyse – Phänotyp) wird allgemeingültig grafisch verdeutlicht

Die Vermischung der beiden Ebenen geht so weit, dass Eigenschaften des Phänotyps und des Genotyps wechselseitig aufeinander übertragen werden (Kattmann, 2005b; Schwanewedel et al., 2008). Beispielsweise werden den Genen die Eigenschaften „krank“ bzw. „gesund“ direkt zugeschrieben (eine Beobachtung des Phänotyps wird auf den Genotyp übertragen) und davon ausgegangen, dass sich Genmerkmale unmittelbar im Erscheinungsbild wiederspiegeln (der Genotyp wird mit der Merkmalsausprägung im Phänotyp gleichgesetzt) (Schwanewedel, 2006; Schwanewedel et al., 2008).

Des Weiteren werden die Begriffe Gen und Merkmal gleichgesetzt. In dieser Vorstellung wird die Informationsweitergabe der Gene als Substitut der Merkmalsweitergabe betrachtet (Kattmann, 2005b). Nach Kattmann fehlt Schüler*innen die Vorstellung des Gens als chemischer Stoff innerhalb eines Systems, dessen Wirkung biochemischer Natur ist (2005b), d. h., dass Genen selbst Eigenschaften wie „krank“ nicht zugesprochen werden sollten, da die tatsächliche Krankheit Ergebnis der Genwirkkette ist. Fehlt dieses Verständnis, werden Gene zu Bedeutungsträgern, denen große Macht zugesprochen wird (Kattmann, 2005b; Schwanewedel et al., 2008). In dem Kontext werden sie häufig mit Bakterien oder Viren gleichgesetzt und ihnen die Fähigkeit zur autonomen Entwicklung zugebilligt (Schwanewedel et al., 2008).

Darüber hinaus gehen Schüler*innen von einer Konstanz des Vererbten aus (Kattmann, 2005b). Diese Idee eines statischen Zustands des Genotyps beeinflusst direkt die Vorstellung, dass eine Veränderung der Gene immer negative Auswirkungen hat und als Normabweichung betrachtet wird (Schwanewedel et al., 2008).

4.2.1.2 Evolution, Anpassung und Selektion

Lernende empfinden Anpassung als schwieriges biologisches Konzept und nur wenigen gelingt es, ein fachlich orientiertes Verständnis von Evolution aufzubauen (Baalmann et al., 2004; Weitzel & Gropengießer, 2009).

Schüler*innen sehen Anpassung als gezieltes adaptives Handeln eines Individuums und binden sie damit an die Erkenntnis über die eigene Situation und Umgebung (Baalmann et al., 2004). Diese Erkenntnis kann bewusst oder unbewusst sein. Anpassung geschieht nur aus einer Notwendigkeit heraus und ist in den Augen der Schüler*innen immer zielgerichtet. Die individuelle Beeinflussung der genetischen Ausstattung wurde im Rahmen der Evolutionstheorie von Lamarck gleichfalls diskutiert, jedoch zugunsten der Selektionstheorie von Darwin von der Wissenschaftsgemeinschaft verworfen (Burkhardt, 1970). Umweltbedingungen werden für diese Notwendigkeit verantwortlich gemacht und gelten als richtungsweisend. Damit ist Anpassung immer eine reaktive Konsequenz mit einem Start- und einem Endpunkt (Baalmann et al., 2004; Weitzel & Gropengießer, 2009).

In diesen Zusammenhang werden auch genetische Veränderungen gesetzt, wobei die Informationsweitergabe auf genetischer Ebene als Lernprozess und genetische Dominanz wörtlich verstanden wird (Baalmann et al., 2004). Genetische Vorstellungen werden von den Lernenden entsprechend so interpretiert, dass sie in das intentionale Konzept passen, d. h. dass das eigene Bewusstsein über eine notwendige Veränderung direkten Einfluss auf die Gene hat (Baalmann et al., 2004). Schüler*innen haben über die zugrundeliegenden Mechanismen kaum Vorstellungen und argumentieren v. a. über gezielte Kreuzung, die Suche eines passenden Lebensraums oder (Nicht-)Gebrauch. Zeitlich ordnen sie das Konzept Anpassung sehr heterogen ein: von innerhalb der Lebensspanne bis zu über Generationen hinweg (Baalmann et al., 2004).

Schüler*innen nehmen Art oder Rasse nicht als variable Größe wahr, sondern setzen sie mit dem Individuum gleich. Dadurch wird Evolution zu einem Prozess der Veränderung, der in allen Individuen einer Population in gleicher Weise vor sich geht. Zufällige, ungerichtete Aspekte der Mutation werden entsprechend abgelehnt (Baalmann et al., 2004).

4.2.1.3 Mikroorganismen

Obwohl Mikroorganismen sowohl in Organismen und Ökosystemen als auch in der biologischen und medizinischen Forschung eine elementare Rolle spielen, wird ihnen im Unterricht wenig Aufmerksamkeit geschenkt (Hörsch & Kattmann, 2005). Mikroorganismen sind für Schüler*innen nicht direkt erfahrbar und werden auch noch in der Oberstufe über Metaphern imaginativ vorgestellt (Hörsch & Kattmann, 2005). Schüler*innen ziehen in ihren Vorstellungen von Mikroorganismen häufig Parallelen zu Insekten bzw. Mikroben: vielzellig, massenhaftes und plötzliches Auftreten. Sie sprechen ihnen zielgerichtetes Handeln zu, damit sie ihre Aufgabe erfüllen können (Hörsch & Kattmann, 2005). Ihr Verständnis ist von einer Kampfmetaphorik geprägt, in der die Idealvorstellung eines keimfreien Menschen

vorherrscht, der von guten Bakterien unterstützt und von schlechten Bakterien angegriffen wird (Hörsch & Kattmann, 2005).

4.2.1.4 Gesundheit

Der Einfluss der Genetik auf die Diagnostik und Prävention macht die Betrachtung von Gesundheit im genetischen Kontext nötig (Schwanewedel, 2006). Schüler*innen nehmen Gesundheit mehrdimensional auf körperlicher, psychischer und sozialer Ebene wahr (Schwanewedel, 2006). Dabei ist für sie entscheidend, wie gut ein*e Betroffene*r mit seinem Zustand umgehen kann und inwiefern seine Leistungs- und Handlungsfähigkeit eingeschränkt sind. Diese Einschränkungen werden ausschließlich an äußeren Kennzeichen festgemacht (Schwanewedel, 2006). In der Vorstellung der Schüler*innen können genetisch bedingte Erkrankungen durch Bakterien oder Viren sowie durch Missbrauch von Medikamenten oder Drogen ausgelöst werden (Schwanewedel, 2006). Eine genetisch bedingte Krankheit wird innerhalb der Familie vererbt und kann nur auftreten, wenn frühere Generationen sie bereits hatten. In diesem Zusammenhang wird eine genetisch bedingte Krankheit immer als Normabweichung betrachtet (Schwanewedel, 2006).

4.2.2 Kumulativer Wissensaufbau durch multiple Kontexte und Fachperspektiven

Das Denken in Vielfalt sollte geübt und eine Kategorisierung in Typen als denkökonomischer Ansatz reflektiert werden (Kattmann, 2015). Allgemein können Perspektiven der Schüler*innen in drei Formen genutzt werden: (1) Als Anknüpfungspunkt, (2) durch einen Perspektivenwechsel und (3) als Kontrast (Kattmann, 2015).

4.2.2.1 Gen und Merkmal

Eine bloße Betonung des Unterschieds zwischen den Begriffen Gen und Merkmal im Unterricht ist nicht ausreichend; die direkte Gegenüberstellung des Gens als Informationsträger und als chemischer Stoff innerhalb des Systems der Zelle mit biochemischer Wirkung erscheint sinnvoller (Kattmann, 2005b, 2015). Zusätzlich sollte deutlich gemacht werden, dass genetische Variation weder positiv noch negativ ist und in dem Zusammenhang vermehrt an Fallbeispielen, z. B. von multifaktoriellen Erkrankungen, gearbeitet werden (Schwanewedel et al., 2008). In Schulbüchern wird die rein mechanistische Betrachtung genetisch bedingter Krankheiten ohne die Einbeziehung äußerer Einflüsse als problematisch gesehen, weil dadurch eine Zuschreibung der Eigenschaften gesund und krank zu den Genen naheliegend ist (Schwanewedel et al., 2008). Im Unterricht sollte zusätzlich die Normvorstellung der Schüler*innen aufgegriffen und reflektiert werden (Schwanewedel et al., 2008).

4.2.2.2 Evolution

Das Unterrichten der Angepasstheit von Lebewesen ohne Bezug zu ungerichteten Prozessen wie Mutation oder Selektion unterstützt theologische und finale Vorstellungen der Schüler*innen (Baalmann et al., 2004). Ebenso ist ein alleiniges Betrachten der Genetik ohne evolutionären Kontext kontraproduktiv, da dadurch die Vorstellung von der Konstanz der Gene und nicht die wissenschaftlich aktuelle Sichtweise einer Variabilität durch Mutation geprägt wird (Baalmann et al., 2004). Weder die Widerlegung von Lamarcks Theorien noch die passive Betrachtung der Anpassung verhindern automatisch auch die Vorstellung einer Intentionalität (Baalmann et al., 2004). In diesem Zusammenhang scheint daher die Vernetzung der Themengebiete Genetik und Evolution dringend geboten. Es sollte deutlich werden, dass zufällig entstandene Eigenschaften auch nachfolgend Gegenstand der Selektion werden können und diese aufgrund der Wechselbeziehung zwischen Lebewesen und Umwelt geschieht (Baalmann et al., 2004). Darüber hinaus sollte die Bedeutung von Anpassung in verschiedenen Kontexten (lebensweltlich, stammesgeschichtlich) reflektiert werden (Weitzel & Gropengießer, 2009).

4.2.2.3 Mikroorganismen

Im Unterricht sollte Mikroorganismen weder ein Bewusstsein noch eine Absicht unterstellt werden (Hörsch & Kattmann, 2005). Dazu kann ein Perspektivenwechsel hilfreich sein, da eigenständige Lebensprozesse der Mikroorganismen zufällige Auswirkungen haben und nur aus Sicht des Menschen als gut oder schlecht zu bewerten sind (Hörsch & Kattmann, 2005). Des Weiteren sollte der Mensch als vielfältiger Lebensraum für Mikroorganismen dargestellt werden, der dauerhaft und notwendigerweise besiedelt wird, z. B. auf der Haut oder das Mikrobiom im Darm (Hörsch & Kattmann, 2005).

4.3 Methodische Empfehlungen für eine abwechslungsreiche Unterrichtsgestaltung

Mit Blick auf die Unterrichtsgestaltung können Sie das Buch und die in ihm beschriebenen Unterrichtsmethoden unterschiedlich einsetzen. *Flipped Classroom* (Akçayır & Akçayır, 2018; Finkenberg & Trefzger, 2019; Wagner et al., 2020), *Digitales Kooperieren* (Dillenbourg & Fischer, 2007; Vogel & Fischer, 2020; Weinberger et al., 2020) und das *Gruppenpuzzle* (Frey-Eiling & Frey, 2011; Preska, 2015; Tepner et al., 2009) sind als gut bekannte Methodenbausteine nicht zwingend an die bei uns verwendeten fachwissenschaftlichen Inhalte und wissenschaftliche Erkenntnismethoden gebunden; fühlen Sie sich frei, biologische Themen und Unterrichtsmethoden neu miteinander zu kombinieren, um die bestmögliche Förderung ihrer Schüler*innen unter Berücksichtigung ihrer Voraussetzungen und Interessen zu gewährleisten. Unsere vorgeschlagenen

Unterrichtsmethoden orientieren sich an (moderat) konstruktivistischen Lerntheorien (Riemeier, 2007), die davon ausgehen, dass Schüler*innen bei der Bewältigung komplexer Aufgaben, wie Lernen in den Naturwissenschaften oder logisches Denken, neue Informationen aus einem temporären Speicher im Arbeitsgedächtnis mithilfe kognitiver Schemata aus dem Langzeitgedächtnis als Anknüpfungspunkte für neues Wissen und Prozeduren in die bestehenden Gedächtnisstrukturen integrieren können (Baddeley, 1992; Sweller et al., 1998). Gerade beim Lernen neuer, komplexer biologischer Konzepte und Erkenntnismethoden, ohne oder mit nur wenigen Vorkenntnissen, können die Lernenden wegen der begrenzten Kapazität des Arbeitsgedächtnisses jedoch Schwierigkeiten haben, ein adäquates Verständnis biologischer Strukturen und Prozesse sowie von deren Zusammenhängen aufzubauen. Insofern müssen Sie als Lehrkraft neben dem Einsatz der Unterrichtsmethoden stets situations- und adressatengerecht didaktisch entscheiden, inwieweit zusätzliche Hilfestellung im Sinne eines Scaffolding in einer komplexen experimentellen Lernumgebung erforderlich sind (Arnold, 2015; Arnold et al., 2017).

Sollte Ihnen ausreichend Zeit zur Verfügung stehen, um Molekularbiologie und Biotechnologie mehrfach in das schulische Biologiecurriuculum zu integrieren, lassen sich die praktischen Module (► Kap. 6, 7, 8, und 9) systematisch miteinander in fachinhaltlicher und wissenschaftsmethodischer Sicht vernetzen. Dabei können Sie sowohl durch die expliziten Referenzen an jeweils vorangegangene fachwissenschaftliche Inhalte (Wadouh et al., 2009) als auch durch das erneute Aufgreifen von bestimmten Arbeitstechniken oder wissenschaftlichen Erkenntnismethoden im Biologieunterricht einen kumulativen Wissensaufbau bei Ihren Schüler*innen aktiv unterstützen (Harms & Bünder, 1999). Damit sind das *kumulative Lernen* und das *forschende Lernen* die beiden didaktischen Leitprinzipien für dieses Buch. Sie bieten Ihnen eine Möglichkeit, ein schulinternes Curriculum der Biotechnologie gemeinsam mit ihrer Fachschaft zu entwickeln und diese Aktivitäten eng mit ihrem Schulprofil abzustimmen. Für spezielle Oberstufen wie Fachoberschulen oder berufliche Oberschulen (FOS/ BOS) mit biotechnologischem Profil kann dies durchaus attraktiv sein, sich ausgehend von den hier zu erwerbenden wissenschaftlichen Erkenntnismethoden in Richtung Forschungs- und Berufsorientierung zu begeben und damit optimal auf biowissenschaftliche und labormedizinische Berufsfelder sowie Berufsprofile von Wissenschaftler*innen wie Molekularbiolog*innen, Biochemiker*innen und entsprechende Ausbildungsberufe wie Laborassistent*innen vorzubereiten. Das kumulative Lernen und die Vernetzung bei wiederholter Verwendung genetischer Grundbegriffe und weiterer fachwissenschaftlicher Inhalte über verschiedene biologische Basiskonzepte wird am Beispiel der Kontexte in den jeweiligen Abschnitten zur Kompetenzförderung näher ausgeführt, u. a. ► Abschn. 6.6.1.

Möglicherweise weniger im Unterricht praktiziert ist eine differenzierte Betrachtung und Übung der wissenschaftlichen Erkenntnismethoden. Wir orientie-

ren uns hierbei an dem von Mayer (2007) etablierten Modell, das ausgehend von den Arbeitstechniken zunehmend komplexere Vorgänge beim wissenschaftlichen Denken und Arbeiten beschreibt. Neben der praktischen Fähigkeit für die Durchführung von Untersuchungen und Experimenten ist das Verständnis der experimentellen Planung sowie der resultierenden Ergebnisse essenziell. Diese Komponenten gehören weniger zu einer praktischen Arbeitstechnik, die durch wiederholte Einübung routiniert ausgeführt werden kann, sondern sie sind anspruchsvolle wissenschaftliche Problemlöseprozesse (Hammann et al., 2006; Klahr, 2000; Klahr & Dunbar, 1988), die kognitiv erfasst und verarbeitet werden müssen. Sie erfordern darüber hinaus ein Verständnis darüber, wie und mit welchen Methoden Naturwissenschaftler*innen zu ihren Erkenntnissen kommen (*Nature of Science* (NOS)) (Arnold et al., 2017; Neumann & Kremer, 2013), wobei sich diese Herangehensweisen fundamental von den Geisteswissenschaften unterscheiden. Der experimentelle Zugang zu natürlichen Phänomenen zeichnet Naturwissenschaften aus, und es ist nicht selbstverständlich, dass aus der rein praktischen Durchführung ein Verständnis von Fachkonzepten angebahnt wird. Ferner ist das Verständnis von naturwissenschaftlichen Denk- und Arbeitsweisen sowie NOS bei Schüler*innen häufig implizit und fehleranfällig (Arnold, 2015; Ehmer, 2008; Hammann et al., 2006).

In diesem Sinne muss forschendes Lernen mehrfach im Biologieunterricht veranlasst werden, um den Aufbau wissenschaftsmethodischer Kompetenzen zu ermöglichen und den Zusammenhang von experimentell gewonnenen naturwissenschaftlichen Erkenntnissen und daraus resultierenden Konzepten, Theorien und Modellen zu verdeutlichen. Während die praktische Durchführung von Arbeitstechniken im Physik-, Chemie- und Biologieunterricht sowohl in der Mittelstufe als auch in der Oberstufe regelmäßig eingeübt wird und die erhobenen Daten mit grafischen und mathematischen Methoden ausgewertet werden, ist die Beteiligung der Schüler*innen an dem Entwurf einer Fragestellung mit Hypothesen sowie die experimentelle Planung eine unterschiedlich große Herausforderung in Abhängigkeit von den Voraussetzungen der Lerngruppe. Gleiches gilt für eine theoretisch fundierte Diskussion der experimentellen Ergebnisse und Beobachtungen sowie für eine Reflexion über die Aussagekraft der Befunde. Mayer & Ziemek (2006) schlagen daher forschendes Lernen als schülerorientierte Unterrichtskonzeption mit Blick auf die Verknüpfung von naturwissenschaftlichen Fragestellungen, praktische Arbeitstechniken und wissenschaftsmethodisches Arbeiten vor. ◘ Tab. 10.3 zeigt im Detail, wie Sie das forschende Lernen durch Variation von Instruktionen der Lehrkraft und Erarbeitung durch die Schüler*innen staffeln und das Vorgehen zunehmend (ggf. mit weiterer adaptiver Unterstützung sowie weiteren Arbeitsaufträgen und Zielsetzungen) schülerorientiert durchführen können. Selbstverständlich können Sie auch eine Auswahl treffen oder die Reihenfolge der Module Ihrem Verwendungszweck entsprechend anpassen (◘ Tab. 4.2).

Tab. 4.2 Überblick über die fachlichen Kontexte, Förderung wissenschaftsmethodischer Kompetenzen sowie exemplarische unterrichtliche Umsetzung anhand ausgewählter Unterrichtsmethoden

	Kontext	Fachkonzepte	DNA-Probe	PCR	Agarose-Gelelektrophores	Restriktions-verdau	Nachweise von Enzymreaktionen	Wissenschaftsmetho-dische Kompetenzen (Mayer, 2007)	Kumulativer Aufbau des Methodenwissen	Exemplarische Umsetzung im Unterricht
Kap. 1	**Kriminalfall** *(alternativ: Pränataldiagostik)*	Deletion, Genmutation	Test -Kit	X	X			Praktische Arbeitstechniken	Einführung neuer molekularbiologischen Methoden und Einübung von praktischen Routinen; Schwerpunkt Durchführung/Auswertung; Reflexion der Vorgehensweise und Klärung des Zwecks Reproduktion der Methoden am Beispiel der Pränataldiagnostik möglich	Flipped classroom
Kap. 2	**Circadianer Rhythmus**	Polymorphismus (VNTRs)	DNA	X	X			Praktische Arbeitstechniken/ wissenschaftliche Erkenntnismethoden	Anwendung einer bekannter Arbeitsmethode in einem neuen fachlichen Kontext; hypothesengeleitetes Vorgehen mit Blick auf den eigenen Genotyp und im Vergleich mit anderen möglich; Nutzung zusätzlicher Datenquellen (Fragebögen/ Selbsteinschätzung), Bewertung ihrer Aussagekraft, Überprüfung der Gültigkeit der Hypothesen auf Basis beider Datenquellen	Digital Kooperieren
Kap. 3	**Bitterer Geschmack**	Polymorphismus (SNP)	DNA	X	X	X		Wissenschaftliche Erkenntnismethoden	Hypothesengeleitetes Vorgehen mit Blick auf den eigenen Genotyp das Vorkommen in der Lerngruppe und schülerzentrierte Planung des experimentellen Vorgehens unter Anwendung einer neuen Arbeitstechnik (Restriktionsverdau) möglich; selbstständige Durchführung und Auswertung der PCR/Gelelektrophorese	Gruppenpuzzle
Kap. 4	**Laktose-Persistenz**	Polymorphismus (SNP), regulatorisches Gen	DNA	X	X	X		Wissenschaftliche Erkenntnismethoden	Hypothesengeleitetes Vorgehen mit Blick auf den eigenen Genotyp das Vorkommen in der Lerngruppe und schülerzentrierte Planung des experimentellen Vorgehens möglich; Wiederholung aller bereits bekannten Methoden; anspruchsvolle Interpretation des Gelbilds	**Vernetzung und kumulatives Lernen**
Kap. 5	**Laktosefreie Milchprodukte**	Enzymreaktionen					X	Wissenschaftliche Erkenntnismethoden	hypothesengeleitetes Vorgehen und schülerzentrierte Planung des experimentellen Vorgehens mit neuen Methoden in Anlehnung an großtechnische Prozesse erforderlich Überprüfung der Hypothesen erforderlich; Anspruchsvolle Nachweisreaktionen. Auswertung und Diskussion der Wirksamkeit von Enzymen sowie Bewertung der Hypothesen; Beurteilung der Aussagekraft und Reflexion des wissenschaftsmethodischen Vorgehens	**Forschendes Lernen**
Kap. 6	**W-Seminar**	Proteinbiochemie	X	X	X	X	X	Wissenschaftliche Erkenntnismethoden	Vorgehen in Absprache mit Lehrkräften, Themenbereiche für die Schüler*innen nach Wahl; fortgeschrittene molekularbiologische Arbeitsmethoden im Universitätslabor möglich	Kooperationsmodelle Schülerforschung

Zusammenfassung
Neben fachlichen müssen auch fachdidaktische Überlegungen mit in die Unterrichtsplanung einfließen. Dieses Kapitel adressiert einige Eckpunkte dieser Überlegungen, um Ihnen den Umgang mit den hier vorgestellten Modulen zu erleichtern. Dazu werden neben möglichen thematischen Einordnungen in den Lehrplan auch empirisch bestätigte Schüler*innenvorstellungen zu diesen Themen behandelt. An geeigneter Stelle finden Sie Hinweise, inwieweit diese mit Hilfe der Module adressiert werden können. Alle in diesem Buch vorgestellten Versuche und Modelle werden bereits praktisch an verschiedenen Schulen umgesetzt.

Literatur

Akçayır, G., & Akçayır, M. (2018). The flipped classroom: A review of its advantages and challenges. *Computers & Education, 126*, 334–345.

Arnold, J. (2015). *Die Wirksamkeit von Lernunterstützungen beim Forschenden Lernen: Eine Interventionsstudie zur Förderung des Wissenschaftlichen Denkens in der gymnasialen Oberstufe*. Logos.

Arnold, J., Kremer, K., & Mayer, J. (2017). Scaffolding beim Forschenden Lernen. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften: ZfDN, 23*(1), 21–37. https://doi.org/10.1007/s40573-016-0053-0

Baalmann, W., Frerichs, V., Weitzel, H., Gropengießer, H., & Kattmann, U. (2004). Schülervorstellungen zu Prozessen der Anpassung – Ergebnisse einer Interviewstudie im Rahmen der Didaktischen Rekonstruktion. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 10*(1), 7–28.

Baddeley, A. (1992). Working memory. *Science, 255*(5044), 556–559.

Bitam, S., Pranke, I., Hollenhorst, M., Servel, N., Moquereau, C., Tondelier, D., … Edelman, A. (2015). An unexpected effect of TNF-α on F508del-CFTR maturation and function. *F1000Research, 4*, 218. https://doi.org/10.12688/f1000research.6683.2

Burkhardt, R. W. (1970). Lamarck, evolution and the politics of science. *Journal of the History of Biology, 3*(2), 275–298. https://doi.org/10.1007/BF00137355

Dillenbourg, P., & Fischer, F. (2007). Computer-supported collaborative learning: The basics. *Zeitschrift für Berufs-und Wirtschaftspädagogik, 21*, 111–130.

Ehmer, M. (2008). *Förderung von kognitiven Fähigkeiten beim Experimentieren im Biologieunterricht der 6. Klasse: Eine Untersuchung zur Wirksamkeit von methodischem, epistemologischem und negativem Wissen.* (Dissertation). Christian-Albrechts-Universität, Kiel. https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:gbv:8-diss-30340; http://eldiss.uni-kiel.de/macau/receive/dissertation_diss_00003034

Finkenberg, F., & Trefzger, T. (2019). Umgedrehter Unterricht – Flipped Classroom als Methode im Physikunterricht. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 25*(1), 77–95.

Frey-Eiling, A., & Frey, K. (2011). Das Gruppenpuzzle. In J. Wiechmann (Hrsg.), *Zwölf Unterrichtsmethoden* (5., überarb. Aufl.). Beltz.

Gropengießer, H. (2016). Schüler besser verstehen. Alltagsvorstellungen im Biologieunterricht. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 22*(1), 231–232. https://doi.org/10.1007/s40573-016-0042-3

Hammann, M., Thi, T. H. P., & Ehmer, M. (2006). Fehlerfrei Experimentieren. *Der mathematische und naturwissenschaftliche Unterricht, 59*(5), 292–299.

Harms, U., & Bünder, W. (1999). Zuwachs von Kompetenz erfahrbar machen: Kumulatives Lernen: Erläuterungen zum Modul 5. https://www.schulportal-thueringen.de/get-data/26634e9f-e013-4747-bb69-04cb3c03d937/modul5.pdf

Hörsch, C., & Kattmann, U. (2005). *Mikroorganismen und mikrobielle Prozesse im Menschen. Bildungsstandards Biologie* (S. 182). Sektion Biologiedidaktik.

ISB, S. f. S. u. B. (2022). LehrplanPlus Bayern. www.lehrplanplus.bayern.de

Kattmann, U. (2005a). Charakterlose Gene. Konzepte und Denkfiguren zur Vererbung. *Bioskop*, 23–25.

Kattmann, U. (2005b). Lernen mit anthropomorphen Vorstellungen? – Ergebnisse von Untersuchungen zur Didaktischen Rekonstruktion in der Biologie. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 11*, 165–174.

Kattmann, U. (2015). Die Neigung, Fehler zu machen, und wie man mit ihnen lernen kann. Themenheft: Fehler-Neigung und Didaktische Rekonstruktion. (Seminar 04/2015).

Klahr, D. (2000). *Exploring science: The cognition and development of discovery processes*. The MIT Press.

Klahr, D., & Dunbar, K. (1988). Dual space search during scientific reasoning. *Cognitive Science, 12*(1), 1–48. https://doi.org/10.1207/s15516709cog1201_1

Kultusministerkonferenz. (2004). Standards für die Lehrerbildung: Bildungswissenschaften. http://www.kmk.org/fileadmin/Dateien/veroeffentlichungen_beschluesse/2004/2004_12_16-Standards-Lehrerbildung.pdf. Zugegriffen am 14.10.2016.

Kultusministerkonferenz. (2005). *Bildungsstandards im Fach Biologie für den Mittleren Schulabschluss*. Wolters Kluwer.

Kultusministerkonferenz (Hrsg.). (2020). *Bildungsstandards im Fach Biologie für die Allgemeine Hochschulreife: (Beschluss der Kultusministerkonferenz vom 18.06.2020)*. Wolters Kluwer Deutschland GmbH.

Lewis, J., & Kattmann, U. (2004). Traits, genes, particles and information: Re-visiting students' understandings of genetics. *International Journal of Science Education, 26*(2), 195–206.

Mayer, J. (2007). Erkenntnisgewinnung als wissenschaftliches Problemlösen. In D. Krüger & H. Vogt (Hrsg.), *Theorien in der biologiedidaktischen Forschung* (S. 177–186). Springer Berlin Heidelberg.

Mayer, J., & Ziemek, H.-P. (2006). Offenes Experimentieren. Forschendes Lernen im Biologieunterricht. *Unterricht Biologie, 30*(317), 4–12.

Neumann, I., & Kremer, K. (2013). Nature of Science und epistemologische Überzeugungen. Ähnlichkeiten und Unterschiede: Paralleltitel: Nature of Science and Epistemological Beliefs – Similarities and Differences. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 19*, 209–232. http://archiv.ipn.uni-kiel.de/zfdn/pdf/19_Neumann.pdf

Preska, A. (2015). *Bedingungen für den Erfolg kooperativer Lernformen: Forschungsstand, Lernwirksamkeit und die Methode des Gruppenpuzzles*. Diplomica Verlag.

Riemeier, T. (2007). Moderater Konstruktivismus. In D. Krüger & H. Vogt (Hrsg.), *Theorien in der biologiedidaktischen Forschung* (S. 69–79). Springer Berlin Heidelberg.

Schwanewedel, J. (2006). Vorstellungen zu Gesundheit und Krankheit im Kontext von Genetik und genetischer Diagnostik. *Erkenntnisweg Biologiedidaktik, 5*, 1–15.

Schwanewedel, J., Hößle, C., & Kattmann, U. (2008). Vorstellung zur Rolle der Gene im Bezug auf die Gesundheit und Krankheit des Menschen. In U. Harms & A. Sandmann (Hrsg.), *Lehr-und Lernforschung in der Biologiedidaktik* (Bd. 3, S. 179–195). StudienVerlag.

Sweller, J., van Merrienboer, J. J. G., & Paas, F. G. W. C. (1998). Cognitive architecture and instructional design. *Educational Psychology Review, 10*(3), 251–296. https://doi.org/10.1023/A:1022193728205

Tepner, M., Roeder, B., & Melle, I. (2009). Effektivität des Gruppenpuzzles im Chemieunterricht der Sekundarstufe I. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 15*, 7–29.

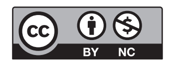
Vogel, F., & Fischer, F. (2020). Computerunterstütztes kollaboratives Lernen. In H. Niegemann & A. Weinberger (Hrsg.), *Handbuch Bildungstechnologie* (S. 57–80). Springer Berlin Heidelberg.

Wadouh, J., Sandmann, A., & Neuhaus, B. (2009). Vernetzung im Biologieunterricht – deskriptive Befunde einer Videostudie. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften: ZfDN, 15*, 69–87.

Wagner, M., Gegenfurtner, A., & Urhahne, D. (2020). Effectiveness of the flipped classroom on student achievement in secondary education: A meta-analysis. *Zeitschrift für Pädagogische Psychologie, 35*(1), 11–31.

Weinberger, A., Hartmann, C., Kataja, L. J., & Rummel, N. (2020). Computer-unterstützte kooperative Lernszenarien. In H. Niegemann & A. Weinberger (Hrsg.), *Handbuch Bildungstechnologie* (S. 229–246). Springer Berlin Heidelberg.

Weitzel, H., & Gropengießer, H. (2009). Vorstellungsentwicklung zur stammesgeschichtlichen Anpassung: Wie man Lernhindernisse verstehen und förderliche Lernangebote machen kann. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 15*(15), 287–305.


BY NC



Praktische Umsetzung an der Schule

Inhaltsverzeichnis

Ergänzende Information Die elektronische Version dieses Kapitels enthält Zusatzmaterial, auf das über folgenden Link zugegriffen werden kann [https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_5]. Die Videos lassen sich durch Anklicken des DOI Links in der Legende einer entsprechenden Abbildung abspielen, oder indem Sie diesen Link mit der SN More Media App scannen.

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_5

5.1 Inhaltlicher und fachmethodischer Aufbau

In den nachfolgenden ► Kap. 6, 7, 8, 9, und 10 finden Sie detaillierte Anleitungen zur praktischen Durchführung der molekularbiologischen Methoden in Ihrem Klassenzimmer. Die Methoden sind jeweils durch Kontexte eingerahmt, die einen individuellen Bezug zulassen. Die Module unterscheiden sich in ihrer Komplexität. Dabei ist das einfachste Modul *Tatort DNA* (► Kap. 6), welches am wenigsten Zeit für die Durchführung im Klassenzimmer in Anspruch nimmt. Die Module *Eat, Sleep, Repeat* (► Kap. 7) sowie *Taste Impossible* (► Kap. 8) und *Food Wars Episode* /(s. ► Kap. 9) ähneln sich in ihrem Umfang, da in beiden Fällen neben der PCR und der Agarose-Gelelektrophorese die DNA-Extraktion als weitere Technik hinzukommt. Die DNA-Analyse basiert auf unterschiedlichen genetischen Grundlagen, dabei wird die Untersuchung *Taste Impossible* und *Food Wars Episode* / durch die praktische Durchführung eines Restriktionsverdaus ergänzt. Das letzte Modul *Food Wars Episode II* (► Kap. 10) ist eher für fortgeschrittene Schüler*innen geeignet und stellt wissenschaftliche Erkenntnismethoden am Beispiel des Experimentierens mit systematischer Variablenkontrolle in den Mittelpunkt. Das dort vorgestellte Experimentierdesign kann allerdings auch in kleinere Untersuchungsteile aufgeteilt werden, ohne dabei den gesamten Zyklus der Erkenntnisgewinnung zu durchlaufen. So sind Verknüpfungen zu anderen naturwissenschaftlichen Disziplinen möglich, z. B. Proteinchemie, chemische Nachweismethoden sowie Qualitätsanalyse in der Lebensmittelindustrie. Die Umsetzung erfolgt im *micro scale*-Maßstab, wodurch ressourcenschonend und kostengünstig gearbeitet werden kann.

Sie haben als Lehrkraft die Möglichkeit, ihren Schwerpunkt selbst zu wählen und die Komplexität je nach Leistungsniveau Ihrer Schüler*innen individuell anzupassen. Die Umsetzung ist ohne zusätzliche Sicherheitsregularien im Klassenzimmer möglich.

Alles auf einen Blick

- Umsetzung im Regelunterricht, keine zusätzlichen Sicherheitsregularien notwendig.
- Auswahl verschiedener thematischer Kontexte mit Alltagsbezug.
- Schrittweiser Aufbau und Unterstützung des kumulativen Lernens.
- Direkter Bezug zum Lehrplan.
- Variierende Schwierigkeit der fachlichen und fachmethodischen Anforderungen.
- Individuelle Anpassungen: von Grundlagen bis Fortgeschritten.

5.2 Verschiedene Unterrichtsmethoden zur Umsetzung

Auch die Unterrichtsmethoden zur Einbindung der Arbeitstechniken und Experimente in den Biologieunterricht haben wir so gewählt, dass wir einerseits an für Sie wohlbekannte Unterrichtsmethoden und Vorgehensweisen aus der Unterrichtspraxis

anknüpfen. Andererseits möchten wir Ihnen aber auch mit Blick auf die Erkenntnisgewinnung mit neuen Arbeitstechniken weitere Impulse für den strukturierten Wissensaufbau und das selbstständige Experimentieren der Schüler*innen geben.

Daher haben wir uns ausschließlich für Unterrichtsmethoden und -konzepte entschieden, die das selbstgesteuerte Lernen der Schüler*innen entweder individuell oder kooperativ in den Mittelpunkt stellen. Entsprechend empfehlen wir für die Umsetzung des ersten Moduls *Tatort DNA* (► Abschn. 6.6.3) einen *Flipped Classroom* (Akçayır & Akçayır, 2018; Finkenberg & Trefzger, 2019; Wagner et al., 2020), diese Methode ist auch bei weiteren Modulen für die Umsetzung nützlich, weil die Schüler*innen an das Selbststudium ausgewählter Materialien in der Vorbereitung auf die praktische Durchführung herangeführt werden. Die theoretische Vorbereitung auf die neuen praktischen Arbeitstechniken und Erkenntnismethoden (Mayer, 2007) ist deswegen wichtig, damit sich die Schüler*innen im Unterricht auf die Bedienung der neuen Geräte, die Auswertung der Daten und die daraus ableitbaren fachwissenschaftlichen Aussagen konzentrieren können.

► Beispiel

Nach der PCR zeigt das Agarose-Gel in einer Probe eine Bande nah an den Probentaschen und eine weitere Probe eine Bande weiter weg von den Taschen (d. h. weiter unten auf dem Agarose-Gel). Welche Aussage lässt sich aus dieser Beobachtung ableiten (► Abb. 6.6)? ◄

Bei den nächsten beiden Modulen *Eat, Sleep, Repeat* (► Abschn. 7.6.3) und *Taste Impossible* (► Abschn. 8.6.3) haben wir Methoden für die Kooperation und Kollaboration der Schüler*innen in Präsenz und digital vermittelt ausgewählt (Dillenbourg & Fischer, 2007; Vogel & Fischer, 2020; Weinberger et al., 2020). Auf diese Weise sind Sie als Lehrkraft flexibel, digitale Medien bei der Vorbereitung und Umsetzung einzubinden. Kooperatives Arbeiten mit digitalen Medien kann sowohl in Präsenz als auch über digitale Medien vermittelt geschehen. In einem Gruppenpuzzle (Frey-Eiling & Frey, 2011; Preska, 2015; Tepner et al., 2009) bearbeiten Schüler*innen beispielsweise einen Kontext, der in mehrere Unterthemen strukturiert wird, zunächst arbeitsteilig, um anschließend in einer weiteren Arbeitsphase ihre verschiedenen thematischen Expertisen (aufgabenbasiert) zusammenzuführen. Diese Kooperation ist durch das arbeitsteilige Vorgehen gekennzeichnet, dabei können digitale Medien z. B. zur Zusammenführung der Gruppenergebnisse genutzt werden. Kollaboration sieht dagegen vor, gemeinsame Lernziele zu erreichen und dabei ein Problem oder eine Fragestellung intensiv im gemeinsamen Austausch zu lösen, wobei eine gemeinsame Problemlösung entsteht und die Beiträge den Gruppenmitgliedern nicht mehr zuzuordnen sind (Vogel & Fischer, 2020; Weinberger et al., 2020). Über diese unterschiedlichen Kooperationsformen (mit oder ohne digitale Medien) können Sie die Arbeitsphasen im praktischen Unterricht strukturieren und unterstützen, da sich die Zusammenarbeit der Schüler*innen positiv auf das Lernergebnis auswirkt (Hmelo-Silver & Jeong, 2020; Jeong et al., 2019). Die digital vermittelte Zusammenarbeit lässt sich darüber hinaus synchron (z. B. in Videokonferenzen) oder asynchron (z. B. in Diskussionsforen oder Wiki-Beiträgen) durchführen (Weinberger et al., 2020).

Mit zunehmender Komplexität der fachlichen Konzepte der Genetik und Molekularbiologie sowie der Übung der Arbeitstechniken und wissenschaftlichen Erkenntnismethoden (Mayer, 2007) durch die Schüler*innen führen wir im Modul *Food Wars* /noch einmal den systematischen Aufbau von Fachwissen durch Vernetzung (Wadouh et al., 2009) und kumulatives Lernen (Harms & Bünder, 1999) aus (► Tab. 4.2). Das fünfte Modul ist in diesem Sinne dem kumulativen Aufbau von wissenschaftsmethodischen Kompetenzen am Beispiel des Experimentierens (Mayer, 2007) mithilfe der Unterrichtsmethode des Forschenden Lernens (Arnold et al., 2017; Mayer & Ziemek, 2006) gewidmet. Eine allgemeine Beschreibung dieser beiden Zugänge finden Sie auch in der Einleitung (► Kap. 1) sowie am konkreten Beispiel (► Abschn. 10.7.2) beschrieben.

5.3 Alles rund um den Thermozykler

Zur Bedienung des Thermozykler können Sie die App kostenlos herunterladen. Die Steuerung dieser Geräte ist über ein Notebook oder Smartphone möglich.

Vorteil

- Die Bedienung mehrerer Thermozykler ist mit derselben App möglich.
- Bei Verwendung eines Notebook kann jedes Gerät individuell gestartet werden.
- Bei der Benutzung mehrere Thermozykler zur selben Zeit können pro Gerät. unterschiedliche Programme ausgewählt sein.
- Der Verlauf der PCR kann in Ist-Zeit verfolgt werden.

Nachdem Download der miniPCR™ Software-App, können Sie verschiedene Protokolle auf dem Gerät vorprogrammieren. Im Online-Material finden Sie eine detaillierte Download-Beschreibung (sn.pub/rEt5bJ). Das Gerät ist multifunktional und kann zur Durchführung einer PCR, als Heizblock bei konstanter Temperatur oder mit linearem Temperaturanstieg genutzt werden. Bei der Programmierung können Sie dies unter der Funktion *protocol type* jeweils einstellen.

5.3.1 Bedienung des Thermozykler und Durchführung der PCR

Die grundlegenden Schritte der Programmierung sind nachfolgend am Beispiel PCR für den Versuch *Tatort DNA* gezeigt:

1. Öffnen Sie die miniPCR™ App.
2. Klicken Sie auf *new protocol* (links unten).
3. Wählen sie im Feld z. B. als *protocol type* PCR aus.
4. Geben Sie dem Protokoll einen Namen (z. B. *Tatort DNA*).
5. Geben Sie die für den Versuch spezifischen Parameter ein (◼ Tab. 5.1).
6. Klicken Sie auf *save* um das Protokoll zu speichern.

Andere Protokolle können auf gleiche Weise erstellt werden. Die Parametereingabe ist an die jeweilige PCR anzupassen.

Tab. 5.1 Einstellungen des PCR-Programms am Beispiel *Tatort DNA*. Die mit * markierten Schritte geben einen PCR-Zyklus an. Die Gesamtanzahl der Zyklen ist unter *number of cycles* angegeben

PCR-Programm	Temperatur [°C]	Zeit [s]
initial denaturation	94	30
denaturation *	94	5
annealing *	57	5
extension *	72	8
final extension	72	30
heated lid	ON	
number of cycles	30	

Bei der Verwendung des Geräts als Heizblock ist die jeweilige Temperatur und Zeit einzustellen. Im Falle eines linearen Temperaturanstiegs ist die Anfangs- und Endtemperatur sowie die Gesamtlaufzeit festzulegen, letztere ergibt dann die Aufheizrate pro Minute.

Tipp

Alle angelegten Programme werden in einer Datenbank für die direkte Wiederverwendung gespeichert.

Alternativ bietet sich auch an, die Schüler*innen die Programmierung des Thermozykler selbst durchführen zu lassen. Tab. 5.2 fasst die häufigsten Probleme und mögliche Fehlerquellen der PCR-Probenvorbereitung und Durchführung zusammen.

5.3.2 Vorbereitung der DNA-Extraktion

Bei der Durchführung der praktischen Versuche *Eat, Sleep, Repeat* (▶ Abschn. 7.2.1) *Taste Impossible* (▶ Abschn. 8.2.1), und *Food Wars Episode I*(▶ Abschn. 9.2.1) stellt die DNA-Extraktion einen kritischen Schritt dar, der maßgeblich die Qualität der Ergebnisse beeinflusst. Die chemische Lyse der Zellen wird dabei durch einen thermischen Inkubationsschritt beschleunigt. Letzterer wird im *heat block* des Thermozyklers durchgeführt. Schon bei der Probenvorbereitung können einige Problemquellen vermieden werden, diese sind in Tab. 5.3 zusammengefasst.

Tab. 5.2 Lösungsvorschläge zu häufig beobachteten Problemen und möglichen Fehlerquellen bei der Probenvorbereitung und Durchführung der PCR

Probleme und Fehlerquellen	Lösungen
Beim Pipettieren der Reagenzien werden die Pipettenspitzen nicht regelmäßig gewechselt. Da die Pipettenspitze immer sowohl mit dem reinen Reagenz als auch mit dem Reaktionsansatz in Berührung kommt, führt das Nicht-Wwechseln zu Kontaminationen.	Sobald mehr als ein Reagenz in der jeweiligen Probe vorliegt, muss die Pipettenspitze gewechselt werden. Alternativ können Sie auch ihre Schüler*innen dazu auffordern, nach jedem Pipettierschritt die Pipettenspitze zu wechseln.
Ein Reagenz wurde vergessen oder in einem falschen Volumen in den Reaktionsansatz pipettiert. In beiden Fällen führt dies zu einem verfälschten oder nicht aussagekräftigen Ergebnis.	Weisen Sie die Schüler*innen explizit auf diesen Schritt hin. Beispielsweise könnten Sie die Schüler*innen dazu auffordern, sich das Pipettierschema zu notieren und nach jedem erfolgreichen Schritt abzuhaken.
Die Flüssigkeiten werden nicht ausreichend durchmischt. Eine mangelnde Durchmischung der Reagenzien kann zu einem weniger aussagekräftigen oder keinem Ergebnis führen.	Durch kurzes Abzentrifugieren wird gewährleistet, dass sich alle Reagenzien in der Spitze des PCR-Gefäßes sammeln. Zusätzlich kann vorsichtig auf- und abpipettiert werden.
Der PCR-Zykler beginnt zu arbeiten, bevor Sie das eigentliche Programm des Versuchs gestartet haben. Viele PCR-Zykler enthalten einen Mikrochip, der sich das zuletzt genutzte Programm merkt und startet, sobald das Gerät an eine Stromquelle angeschlossen wird.	Stellen Sie sicher, dass der PCR-Zykler ausgeschaltet ist, während Sie das Programm auswählen und Sie ihn erst einschalten, sobald das neue Programm geladen wurde.
Nach der PCR ist keine Probe im PCR-Gefäß zu sehen. Durch Erhitzen der Probe während der PCR kommt es zu Verdunstung.	Deckel der PCR-Gefäße sorgfältig verschließen um zu verhindern, dass diese verdampfen. Zentrifugieren Sie die Proben kurz ab, damit sich die Flüssigkeit vollständig am Boden sammelt. Die PCR-Gefäße nach der PCR erst öffnen, wenn sie auf Raumtemperatur abgekühlt sind.

Für die Extraktion stehen Ihnen zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Einerseits die Extraktion über eine Mundspülung mit einer 0,9 %-igen Natriumchlorid-Lösung (NaCl) und zweitens die mechanische Extraktion mit einem Zahnstocher. Diese Anleitungen unterscheiden sich fundamental und dürfen daher nicht vermischt werden.

Tab. 5.3 Lösungsvorschläge zu häufig beobachteten Problemen und möglichen Fehlerquellen bei der Probenvorbereitung und Durchführung der DNA-Extraktion

Probleme und Fehlerquellen	Lösungen
Überstand oder **Pellet**? Den Schüler*innen ist unklar, mit welcher der beiden Komponenten (Überstand, Pellet) weitergearbeitet werden muss.	**Mundspülung:** Vor der Hitzeinkubation wird mit dem Pellet weitergearbeitet, nach der Inkubation mit dem Überstand. **Zahnstocher:** Vor der Hitzeinkubation wird nur mit einer Probe gearbeitet, daher ist eine Unterscheidung nicht nötig. Nach der Inkubation wird mit dem Überstand weitergearbeitet.
Nach der Zentrifugation ist ein kleines oder kein Pellet sichtbar. Das Ablösen bzw. Abschaben der Mundschleimhautzellen wurde zu zaghaft und/oder zu kurz durchgeführt.	**Mundspülung:** Spülen Sie trotz des unangenehmen Geschmacks der NaCl-Lösung ausgiebig. **Zahnstocher:** Lassen Sie sich Zeit sowohl beim Abschaben als auch beim Ablösen der Zellen. In beiden Fällen kann vor der Hitzeinkubation ein Test-Zentrifugationsschritt durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass sich ausreichend Zellen in der Pufferlösung befinden. Im Anschluss muss das Pellet wieder vollständig gelöst werden.
Beim Pipettieren des Überstands lösen sich Teile des Pellets. Zelltrümmer kontaminieren Ihre **genomische DNA** im Überstand und führt zur Verfälschung des eigentlichen Ergebnisses nach der Agarose-Gelelektrophorese.	Zentrifugieren Sie die Probe erneut ab. Achten Sie darauf, dass die Pipettenspitze das Pellet nicht berührt und Sie den Druckknopf der Pipette nur langsam loslassen. Verwenden Sie bei dem erneuten Pipettieren eine frische Pipettenspitze.

! Da genomische DNA empfindlich auf Temperatureinflüsse reagiert, muss mit DNA-Proben sowohl auf Eis als auch zügig gearbeitet werden.

5.3.3 Wichtiges zum Restriktionsverdau

Der Restriktionsverdau bildet häufig den letzten Schritt vor der Agarose-Gelelektrophorese und ist damit ebenfalls ein kritischer Schritt. Er beeinflusst maßgeblich die Ergebnisqualität der Versuche *Taste Impossible* (► Abschn. 8.2.3) und *Food Wars Episode I* (► Abschn. 9.2.3). Der Restriktionsverdau erfolgt ebenfalls im *heat block* des Thermozykler. Bei der Arbeit mit Enzymen können einige Problemquellen vermieden werden. Diese sind in Tab. 5.4 zusammengefasst.

! Da Enzyme äußerst empfindlich auf Temperatureinflüsse reagieren, müssen alle Schritte auf Eis erfolgen. Tauen Sie das Restriktionsenzym erst kurz vor der Verwendung auf Eis auf.

Tab. 5.4 Lösungsvorschläge zu häufig beobachteten Problemen und möglichen Fehlerquellen bei der Arbeit mit Restriktionsenzymen

Probleme und Fehlerquellen	Lösungen
In der Pipettenspitze ist keine Enzymlösung sichtbar. Beim Umgang mit kleinen Mengen, ist häufig nur ein winziger Probentropfen sichtbar.	Üben Sie das Pipettieren von sehr kleinen Mengen vorab. Geben Sie das Restriktionsenzym zuletzt direkt in die Lösung. Pipettieren Sie nie mehrmals Restriktionsenzym in Ihren Ansatz, da eine erhöhte Enzymkonzentration ihre Ergebnisse zerstören könnte.
Nach dem Hitzeinkubationsschritt werden die Proben gelagert. Das verwendete Restriktionsenzym wird nicht inaktiviert, wodurch es nach einer bestimmten Zeit zum vollständigen Abbau der DNA-Fragmente kommt.	Sobald der Restriktionsverdau in der vorgegebenen Zeit abgeschlossen ist, müssen die Proben sofort mittels Agarose-Gelelektrophorese analysiert werden.

Schalten Sie den Thermozykler zwischen verschiedenen Einstellungen aus, da dieser sonst automatisch das vorangegangene Protokoll startet. Im Fall des Restriktionsverdaus im Anschluss an eine PCR kann das fatal sein. Denn die Denaturierungstemperatur der PCR zerstört das Restriktionsenzym.

5.4 Alles rund um die Agarose-Gelelektrophorese

5.4.1 Vorbereitung der Agarose-Gele

Tipp

Um die Wartezeiten optimal auszunutzen, bietet sich an, die Agarose-Gele während der PCR zu gießen.

Tragen Sie während der Agarose-Gel-Herstellung Handschuhe.

Der grundsätzliche Ablauf zur Herstellung von Agarose-Gelen ist aus Abb. 5.1 zu entnehmen. Schauen Sie sich das Video zur praktischen Herstellung eines Agarose-Gels im Labor an (Abb. 5.1).

Bereiten Sie eine saubere und trockene Gel-Gießapparatur vor und legen Sie einen Probenkamm bereit (Abb. 5.3). Die entsprechende Menge an Agarose (0,48 g–0,90 g) wird mit 30 mL 1x TBE-Puffer versetzt.

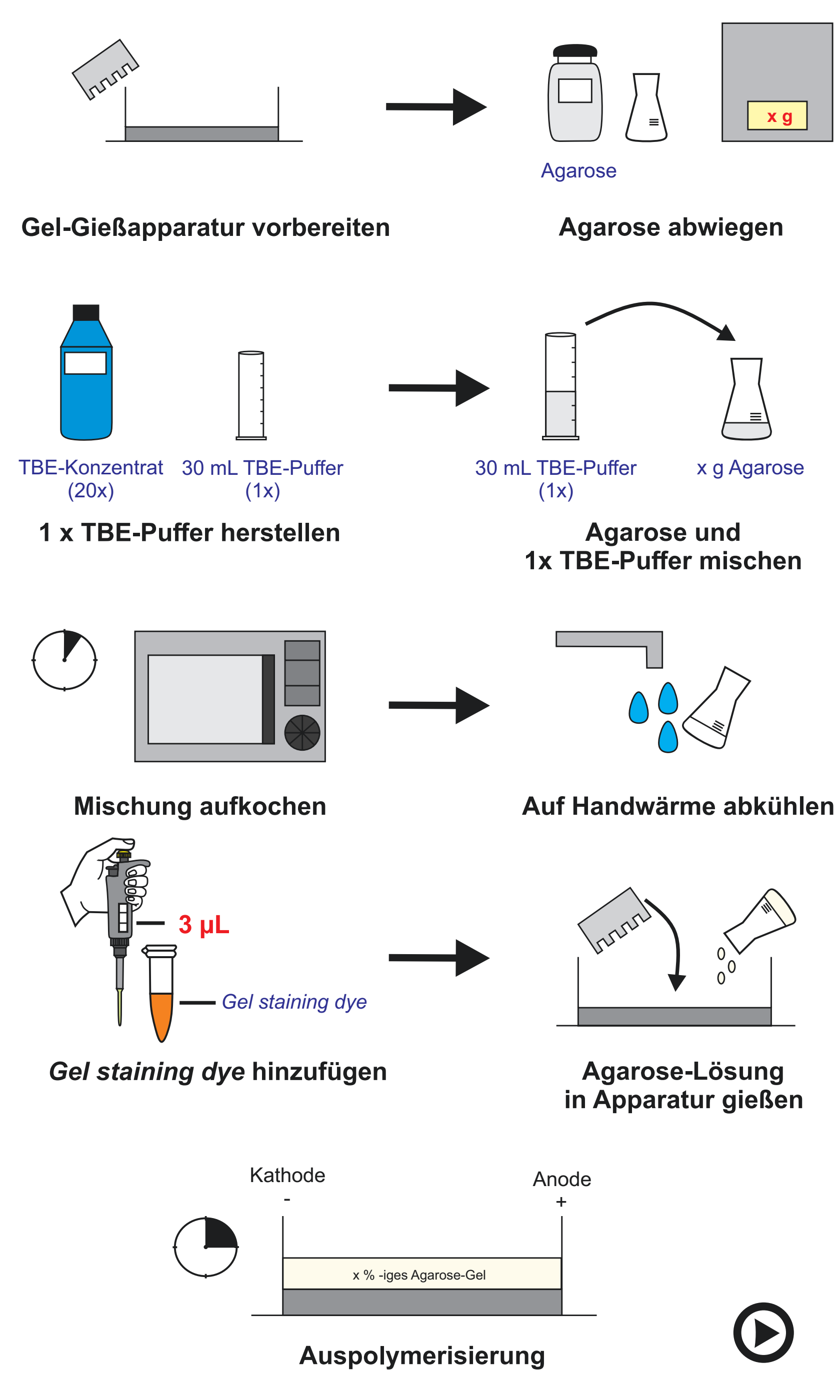


Abb. 5.1 Herstellung von Agarose-Gelen für die Gelelektrophorese. Je nach Versuch werden unterschiedlich %-ige Agarose-Gele verwendet. Die einzuwiegende Menge an Agarose lässt sich dabei aus dem jeweiligen prozentualen Anteil des Gels berechnen. Pro Gel werden 30 mL 1x TBE-Puffer verwendet. Diese werden nach dem Abkühlen auf Handwärme mit 3 µL *gel staining dye* versetzt (▶ https://doi.org/10.1007/000-6fv)

Tipp

Setzen Sie für mögliche Wiederholungen ein größeres Volumen an 1x TBE-Puffer an.

Die Mischung wird zum Lösen der Agarose kurz in der Mikrowelle aufgekocht. Eine klare Lösung zeigt ein vollständiges Lösen der Agarose an. Um einen Siedeverzug zu vermeiden, kann der Vorgang in der Mikrowelle unterbrochen und der Erlenmeyerkolben mehrmals geschwenkt werden. Kühlen Sie die homogene Mischung unter fließendem Wasser bis zur Handwärme ab. Geben Sie dann 3 µL *gel staining dye* hinzu und schwenken Sie das Gefäß, bis keine Schlieren vom Farbstoff mehr zu sehen sind.

Wichtig

gel staining dye erst nach dem Abkühlen hinzugeben.

Pro 10,0 mL Agarose-Lösung wird 1,00 µL *gel staining dye* benötigt.

Die Lösung wird dann in die Gel-Gießapparatur überführt. Stecken Sie den Probenkamm in die vorgesehene Halterung.

Tipp

Kleine Luftblasen im Gel können mit einer Pipettenspitze entfernt werden.

Nach 15–20 min ist das Gel auspolymerisiert. Entfernen Sie den Probenkamm vorsichtig. Die Agarose-Gele können direkt für die Elektrophorese verwendet werden.

Tipp

Agarose-Gele können bis zu einem Tag im Kühlschrank gelagert werden. Wickeln Sie diese dafür erst in Frischhaltefolie und dann in Alufolie ein. Damit schützen Sie die Gele vor dem Austrocknen und den enthaltenen Farbstoff vor Schädigung durch Lichtstrahlung. Sie haben als Lehrkraft daher auch die Möglichkeit, die Agarose-Gele für Ihre Schüler*innen im Vorfeld der Versuchsdurchführung vorzubereiten.

Die spezifischen Herstellungsangaben der Agarose-Gele und des TBE-Puffers sind in den entsprechenden Checklisten der Versuchskapitel zu finden, u. a. ► Abschn. 6.4. ◘ Tab. 5.5 fasst die häufigsten Probleme und mögliche Fehlerquellen der Agarose-Gel-Herstellung zusammen.

Tab. 5.5 Lösungsvorschläge zu häufig beobachteten Problemen und möglichen Fehlerquellen der Agarose-Gel-Herstellung

Probleme und Fehlerquellen	Lösungen
Agarose ist nicht vollständig gelöst. Keine klare Lösung oder auch Schlieren sind ein Hinweis für ein unvollständiges Lösen der Agarose.	Halten Sie die Lösung gegen das Licht und schwenken Sie diese leicht, um Schlieren zu erkennen. Wiederholen Sie das Aufkochen in der Mikrowelle, bis die Lösung vollständig klar und frei von Schlieren ist.
Starkes Schäumen der Mischung von Agarose und 1x TBE-Puffer beim Aufkochen. Dies deutet auf Spülmittelrückstände im Erlenmeyerkolben hin.	Verwenden Sie ein neues Glasgefäß und wiederholen den Vorgang. Alternativ können Sie die Glasgefäße vor dem Gebrauch mit klarem Wasser spülen.
Agarose-Lösung kocht über. Überkochen der Lösung ist auf zu langes Kochen in der Mikrowelle zurückzuführen.	Unterbrechen Sie das Aufkochen regelmäßig und schwenken Sie dabei kurz die Mischung. Beachten Sie, dass es beim Schwenken zu einem Siedeverzug kommen kann!
Agarose-Lösung wird bereits im Erlenmeyerkolben fest und klumpt beim Überführen in die Gel-Gießapperatur oder macht einen Transfer gar unmöglich. Wenn die Agarose im Kolben frühzeitig fest wird, ist das auf zu langes Abkühlen unter Wasser oder zu langes Stehenlassen zurückzuführen.	Die Herstellung des Agarose-Gels muss wiederholt werden. Achten Sie darauf, dass Sie die Agarose-Lösung nach dem Aufkochen nicht zu stark und unter ständigem Schwenken abkühlen und zügig arbeiten.
gel staining dye vermischt sich nicht gut mit der Agarose-Lösung. Die Agarose-Lösung wird beim Abkühlen viskoser, bis zu einem Punkt, an dem sich der *gel staining dye* nicht mehr gleichmäßig in der Lösung verteilen kann.	Schwenken Sie mehrmals das Gefäß, bis sich der Farbstoff homogen verteilt hat. Falls dies nicht mehr möglich ist, wiederholen Sie das Lösen der Agarose in Puffer, andernfalls riskieren Sie, dass nicht alle DNA-Banden gleichmäßig im Agarose-Gel zu sehen sind.
gel staining dye wird zu einer zu heißen Agarose-Lösung pipettiert. Ist die Lösung zu heiß, kann es dazu führen, dass keine DNA-Banden nach der Elektrophorese auf dem Agarose-Gel sichtbar sind, weil der Farbstoff durch die Hitze geschädigt wurde.	Agarose-Lösung nach dem Aufkochen bis zur Handwärme abkühlen (ca. 35 °C) und den *gel staining dye* zügig hinzugeben.
Zugabe des *gel staining dye* wird vergessen. Ohne den *gel staining dye* sind die DNA-Banden auf dem Agarose-Gel nicht detektierbar.	Weisen Sie bei der Durchführung mit Schüler*innen explizit auf diesen Schritt hin. Beispielsweise könnten Sie den *gel staining dye* direkt neben die Gel-Gießapperatur legen.

Tab. 5.5 (Fortsetzung)

Probleme und Fehlerquellen	Lösungen
Probenkamm wird vor dem Festwerden vergessen. Keine Probentaschen sind auf dem Agarose-Gel vorhanden.	Die Herstellung des Agarose-Gels muss wiederholt werden.
Mögliche Bläschen verbleiben im Agarose-Gel, während es auspolymerisiert. Die DNA-Banden laufen nicht in einer geraden Linie durch das Agarose-Gel. Bläschen im Agarose-Gel verhindern eine exakte Auftrennung der DNA-Banden.	Entfernen Sie vor dem Festwerden des Agarose-Gels mögliche Bläschen mit einer Pipettenspitze oder streichen Sie diese an den Rand des Agarose-Gels.
Probentaschen sind beschädigt. Beim Auftragen der PCR-Proben in die Probentaschen des Agarose-Gels fließen manche DNA-Proben durch die Tasche. Nur die unbeschädigten Probentaschen können zum Auftragen der DNA-Proben verwendet werden.	Setzen Sie den Probenkamm erst nach dem Transfer der Agarose-Lösung in die Gel-Gießapperatur ein, so gewährleisten Sie, dass die Taschen vollständig umschlossen sind. Entfernen Sie nach dem Festwerden des Agarose-Gels vorsichtig und langsam den Probenkamm, bei ruckartigen Bewegungen könnte das Gel reißen.

5.4.2 Empfehlungen für die Durchführung der Agarose-Gelelektrophorese

Ausführliche Erklärungen zum Konzept der Agarose-Gelelektrophorese sind in ► Abschn. 3.2 zu finden. In Tab. 5.6 finden Sie wichtige Hinweise zur praktischen Durchführung der Agarose-Gelelektrophorese, mit denen Sie typische Problemquellen vermeiden können.

Tab. 5.6 Lösungsvorschläge zu häufig beobachteten Problemen und möglichen Fehlerquellen der Agarose-Gelelektrophorese

Beim Auftragen der DNA-Proben werden die Probentaschen mit der Pipettenspitze durchstochen. Die DNA-Proben bleiben nicht in der Probentasche des Agarose-Gels.	Achten Sie darauf, dass Sie während des Probenauftrags mit der Pipettenspitze nicht zu tief in die Probentasche eintauchen, um diese nicht zu beschädigen. Unterstützen Sie sich mit der zweiten Hand beim Pipettieren, das hilft bei einer ruhigen und präzisen Führung der Pipette.
Es ist keine PCR-Probe in der Probentasche zu erkennen. Die PCR-Proben werden zu schnell in die Probentaschen pipettiert oder der Druckknopf der Pipette wird nach dem Pipettieren der PCR-Probe nicht gedrückt gehalten, sodass die PCR-Probe wieder aus der Probentasche herauspipettiert wird.	Drücken Sie den Druckknopf nur langsam, damit die mit Glyzerin versetzten Proben Zeit haben, den Puffer in den Taschen zu verdrängen. Pipettieren Sie langsam und sorgfältig, um zu verhindern, dass die PCR-Probe wieder aus der Probentasche fließt. Halten Sie den Druckknopf der Pipette solange gedrückt, bis Sie mit der Pipettenspitze die Probentasche vollständig verlassen haben.
Auftragen des DNA-Größenstandards in Probentasche wird vergessen. Eine Abschätzung der Größe der auf dem Agarose-Gel sichtbaren DNA-Banden ist nicht möglich.	Der Versuch muss wiederholt werden, da so eine Interpretation der Ergebnisse unmöglich ist.
Auftragungsreihenfolge wird nicht notiert. Eine Interpretation der auf dem Agarose-Gel sichtbaren DNA-Banden ist nicht möglich, da eine eindeutige Zuordnung nicht erfolgen kann.	Weisen Sie bereits vor dem Auftragen der PCR Proben auf das Agarose-Gel die Schüler*innen explizit darauf hin, sich die Auftragsreihenfolge zu notieren. Alternativ können Sie eine Auftragsreihenfolge vorgeben.
Die Agarose-Gelelektrophorese kann nicht gestartet werden. Blasenbildung im TBE-Laufpuffer bleibt aus, oder die Lampe des Einschaltknopfs leuchtet nicht dauerhaft. Es wurde zu wenig 1x TBE-Puffer in die Elektrophoresekammer gegossen oder die Herstellung des 1x TBE-Puffers ist fehlgeschlagen, da der Laufpuffer zu stark verdünnt wurde. Alternativ könnte auch die Gelelektrophoresekammer nicht vollständig geschlossen sein.	Geben Sie weiteren 1x TBE-Puffer in die Elektrophoresekammer, bis das Agarose-Gel leicht bedeckt ist. Setzen Sie den 1x TBE-Puffer neu an. Überprüfen Sie, dass der Deckel der Gelelektrophoresekammer passgenau abschließt. In diesem Fall leuchtet die Lampe des Einschaltknopfs dauerhaft.
Starke Blasenbildung im TBE-Laufpuffer, sowie Rauchentwicklung beim Start der Agarose-Gelelektrophorese ist beobachtbar. Die Herstellung des 1x TBE-Puffers ist fehlgeschlagen, der Laufpuffer wurde zu wenig verdünnt.	Schalten Sie das Gerät sofort aus! Es wurde das TBE-Konzentrat verwendet, ohne dieses entsprechend zu verdünnen. Setzen Sie den 1x TBE-Puffer neu an und versuchen Sie die Pufferlösungen vorsichtig auszutauschen. Sollte dies nicht mehr möglich sein, muss der Versuch wiederholt werden.

Tab. 5.6 (Fortsetzung)

Nach Anschalten des Blaulichts sind keine DNA-Banden zu erkennen. Es wurde vergessen, *gel staining dye* in die Agarose-Lösung zu pipettieren. Das Blaulicht wurde über die gesamte Dauer der Gelelektrophorese angelassen.	Weisen Sie bei der Durchführung mit Schüler*innen explizit darauf hin, dass sie die Gelelektrophorese zwar in Ist-Zeit verfolgen können, eine zu lange Lichtexposition allerdings den Farbstoff bleicht. Falls nur der DNA-Längenstandard auf dem Agarose-Gel zu sehen ist, ist dies auf eine fehlerhafte PCR zurückzuführen. Der Versuch muss erneut durchgeführt werden.

5.5 Korrekte Bedienung einer Zentrifuge

Hinweise zur sachgemäßen Handhabung der Zentrifugen sind nachfolgend aufgeführt (Abb. 5.2):

Wichtig

- Achten Sie vor der Zentrifugation darauf, dass die Mikrozentrifuge ausbalanciert ist.
- Beim Zentrifugieren nur eines Reaktionsgefäßes muss ein Gegengewicht verwendet werden.
- Achten Sie darauf, dass die Reaktionsgefäße richtig verschlossen sind.
- Die Deckelöffnungen der Reaktionsgefäße zeigen nach innen.
- Öffnen Sie die Zentrifuge erst, nachdem diese vollständig zum Stehen gekommen ist.
- Für den PCR-Gefäß-Rotor gilt: Befüllen Sie die Zentrifuge von innen nach außen.

Tab. 5.7 fasst die häufigsten Probleme und mögliche Fehlerquellen beim Zentrifugieren zusammen.

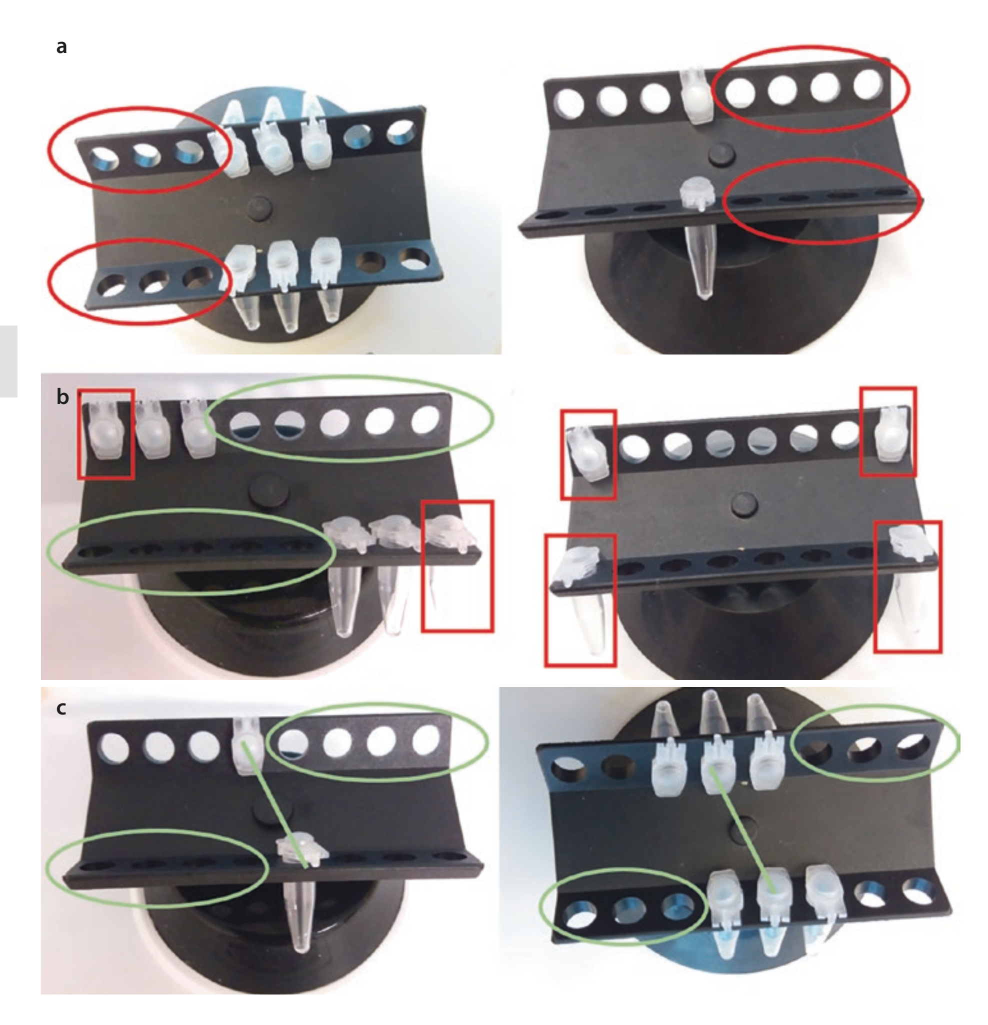


Abb. 5.2 **Korrekte Bedienung der Minizentrifuge.** Eine Zentrifuge muss immer austariert sein, sodass die Gewichte auf der Kreisbahn gleichmäßig verteilt sind. Bei diesem Rotorkopf der Minizentrifuge kommt noch eine Besonderheit hinzu: Proben, die am Rand platziert werden, tendieren dazu herauszufliegen. **a** Proben nicht austariert. **b** Proben austariert, allerdings Befüllung der Zentrifuge von außen nach innen, sodass bei Reaktionsgefäßen außen die Gefahr besteht, dass die Deckel beim Zentrifugieren kaputtgehen und die Proben herausfliegen, **c** Richtig austariert; Befüllung der Zentrifuge von innen nach außen erfolgt

Tab. 5.7 Lösungsvorschläge zu häufig beobachteten Problemen und möglichen Fehlerquellen beim Zentrifugieren

Probleme und Fehlerquellen	Lösungen
Beim Anschalten der Zentrifuge ist ein lautes Schlaggeräusch wahrnehmbar. Der Rotor wurde nicht sachgemäß eingesetzt und befestigt.	Kontrollieren Sie vor dem Gebrauch der Zentrifuge, ob der Rotor fest montiert wurde. Der Rotor darf außer der Achsendrehung keinen Bewegungsspielraum haben.
Der gewählte Rotoraufsatz passt nicht zu der Größe der verwendeten Reaktionsgefäße. Werden zu kleine Reaktionsgefäße für den Rotor verwendet, können diese während der Zentrifugation in die Halterung gedrückt werden. Bei zu großen Reaktionsgefäßen besteht die Gefahr, dass diese sich aus dem Rotorkopf lösen und die Zentrifuge beschädigen.	Weisen Sie die Schüler*innen auf die verschiedenen Rotorgrößen hin. Es empfiehlt sich, dass die Schüler*innen nur in Anwesenheit eines Betreuers die Zentrifuge bedienen.
Beim Anschalten der Zentrifuge befinden sich Flüssigkeitstropfen an der Innenseite des Zentrifugendeckels. Die Reaktionsgefäße wurden nicht vollständig verschlossen.	Weisen Sie die Schüler*innen auf das sachgemäße Verschließen der Reaktionsgefäße hin, da sonst die Proben neu vorbereitet werden müssen oder im schlimmsten Fall der Versuch wiederholt werden muss. Es empfiehlt sich beim Orientieren der Reaktionsgefäße darauf zu achten, dass die Deckelöffnungen nach Innen zeigen.
Beim Anschalten ist ein unrhythmisch-lautes Geräusch wahrnehmbar. Sind die Proben in der Zentrifuge nicht austariert, führt dies zu einer Unwucht. Die Zentrifuge wird dadurch beschädigt.	Die Benutzung der Proben ist zum Teil oder überhaupt nicht mehr möglich. Stellen Sie vor Anschalten der Zentrifuge sicher, dass die Proben austariert sind. Sofern Sie eine ungerade Anzahl an Proben zentrifugieren wollen, müssen Sie ein Gegengewicht zum Austarieren herstellen.

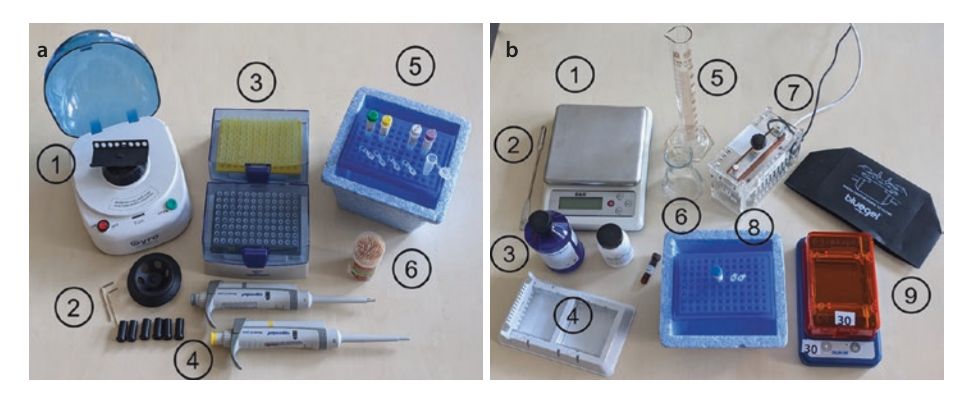
5.6 Planung und Vorbereitung des Klassenraums

Für alle in den ► Kap. 6, 7, 8, und 9 beschriebenen Versuche sind im Vorfeld kleine Vorbereitungen durch Sie als Lehrkraft erforderlich.

Wichtig

- Pro Gruppe oder Reihe ein Müllgefäß.
- Pro Gruppe ein Folienstift.
- Pro Gruppe ein kleines Gefäß zum Lagern der Reagenzien auf Eis.
- Pro Gruppe zwei Plastikbecher (nur für ► Kap. 7, 8, und 9 erforderlich).
- Kleine Weithals-Erlenmeyerkolben (min. 50 mL) und Spatel für die Gelherstellung.
- Gefäß zur Herstellung der 1x TBE-Pufferlösung (Gesamtvolumen 1 L).
- Messzylinder: min. 50 mL zur Gel-Herstellung, min. 1 L zur Herstellung des 1x TBE-Puffers.
- Mindestens eine Waage (Genauigkeit d = 0,01).
- Eine Mikrowelle, alternativ kann auch ein Magnet-Heizrührer inkl. Rührfisch verwendet werden.
- Eis zum Kühlen der Reagenzien und Proben.

Angaben zu versuchsspezifischen Materialien, die von Ihnen vorbereitet werden müssen, sind in den entsprechenden Kapiteln zu finden. Entfernen Sie vor Unterrichtsbeginn alle nicht zum Versuch gehörenden Materialien von den Schulbänken. Bereiten Sie alle nötigen Materialien vor und bauen Sie die für den Versuch benötigten Geräte auf (◘ Abb. 5.3).



◘ **Abb. 5.3 Beispielübersicht der für die Versuche benötigten Reagenzien und Materialien. a** 1: Minizentrifuge, 2: Zentrifugenzubehör (Rotor für größere Reaktionsgefäße, Einsätze für Reaktionsgefäße mit kleineren Volumina, Werkzeug), 3: Pipettenspitzen (3 µL, 100 µL), 4: Pipette (3 µL, 200 µL), 5: Styroporbox mit Eis, Rack mit Reagenzien und frischen Reaktionsgefäßen (PCR Cups, ERG), 6: Zahnstocher für DNA-Extraktion (Alternative in Abschn. 5.3.2). **b** 1: Waage (Genauigkeit d = 0,01, zwei Nachkommastellen), 2: Spatel, 3: Reagenzien für Agarose-Gel (TBE-Puffer, Agarose, *gel staining dye*), 4: Gel-Gieß-Apparatur, 5: Messzylinder, 6: Weithals-Erlenmeyerkolben, 7: PCR-Zykler (mit Stromanschluss und Computer-Anschluss), 8: Styroporbox mit Eis, Rack mit PCR-Proben und DNA-Längenstandard, 9: Gelelektrophoresekammer mit integriertem Blaulicht für die Visualisierung und Abdeckhaube

Tipp

Sowohl für die Durchführung der PCR als auch der Agarose-Gelelektrophorese empfiehlt es sich, Stationen im Klassenzimmer oder Übungsraum aufzubauen.

Wichtig
Es empfiehlt sich während der gesamten Versuche Handschuhe zu tragen. Weisen Sie Ihre Schüler*innen auf die allgemeinen Verhaltensregeln in einem Labor hin.

Wichtig
Denken Sie daran, alle nötigen Reagenzien während der Vorbereitung auf Eis aufzutauen und vor der Verwendung kurz zu zentrifugieren. Pro Gruppe wird jeweils eine bestimmte Anzahl an Reagenzien benötigt. Bereiten Sie diese entsprechend der jeweiligen Versuche vor. Sie finden die Angaben dazu in unseren Online-Zusatzmaterialien (sn.pub/rEt5bJ).

5.7 Umgang mit einer Kolbenhubpipette

Im Vorfeld der Versuchsdurchführung empfehlen wir, Ihre Schüler*innen zunächst mit dem grundlegenden Umgang mit einer Pipette, dem täglichen Arbeitswerkzeug eines Biochemikers, vertraut zu machen. Bei Pipetten handelt es sich um volumetrische Geräte, welche zur genauen und sicheren Überführung und Messung von Flüssigkeiten dienen (◘ Abb. 5.4). Je nach Modell können Volumina von 1–1000 µL pipettiert werden. Das höchstmögliche Volumen ist oben am Pipettenschaft angegeben. Zehn Prozent des angegebenen Maximalvolumens ergeben dabei das minimal mögliche Pipettiervolumen des jeweiligen Pipettentyps. Innerhalb des entsprechenden Arbeitsbereichs kann das gewünschte Volumen durch Drehen der geriffelten Schraube am Pipettengriff eingestellt und an der Anzeige abgelesen werden. Die Pipetten werden mit Einwegspitzen aus Polypropylen benutzt, die durch den eingebauten Spitzenabwerfer entfernt werden. Durch Anklicken der ◘ Abb. 5.4 startet das Video.

Wichtig
Es darf niemals über die Minimal- oder Maximaleinstellung gedreht werden!

5.7.1 Vorgehensweise beim Pipettieren

Im ersten Versuch soll das Pipettieren mit Wasser geübt werden. Alternativ können auch andere Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Viskosität, wie z. B. Glyzerin, getestet werden. Nachfolgend werden die wesentlichen Schritte des proteinchemisch exakten Pipettierens beschrieben. Beim Pipettieren unter sterilen Bedingungen müssen bei der Handhabung weitere Schritte berücksichtigt werden. Diese werden hier allerdings nicht aufgeführt.

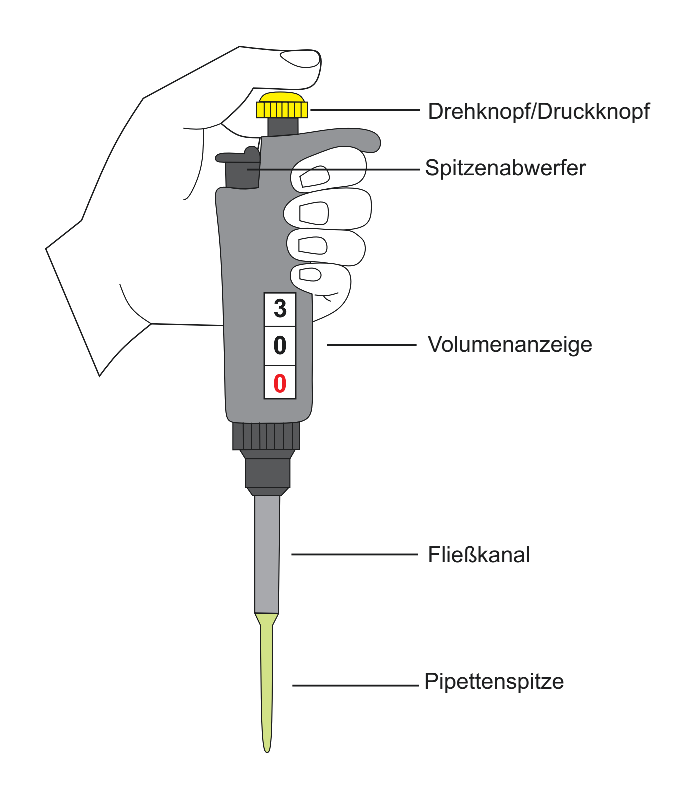


Abb. 5.4 Grundsätzlicher Aufbau einer Kolbenhubpipette. Die Volumenanzeige kann je nach Herstellertyp leicht variieren. Exemplarisch ist die Einstellung für 30 µL gezeigt

1. Anbringen der Pipettenspitze:
   - Passende Pipettenspitze auf den Pipettenschaft stecken. Die Pipettenspitze nicht mit den Fingern berühren.
   - Um zu gewährleisten, dass die Spitze dicht abschließt, wird diese unter leichtem Drehen der Pipette angedrückt.
2. Ansaugen von Flüssigkeiten:
   - Druckknopf bis zum ersten Druckpunkt eindrücken.
   - Pipette senkrecht halten und 2–3 mm in die Flüssigkeit eintauchen.
   - Den Druckknopf langsam loslassen, um die Probenflüssigkeit einzusaugen. Eine Sekunde warten, dann die Spitze aus der Flüssigkeit nehmen.
   - Die an der Spitzenoberfläche befindliche Probenflüssigkeit kann durch ein Tuch entfernt werden. Dabei ist wichtig, die Spitzenöffnung nicht zu berühren.
3. Entleeren von Flüssigkeiten:
   - Das Ende der Spitzen in einem Winkel von 10–40 Grad gegen die Innenwand des Gefäßes halten. Dabei ist wichtig, die Spitze nicht zu fest gegen die Wand zu drücken, da sie sich sonst von der Pipette löst.
   - Den Druckknopf bis zum ersten Druckpunkt herunterdrücken, eine Sekunde warten und bis zum zweiten Druckpunkt herunterdrücken.
   - Die Pipette mit ganz gedrücktem Druckknopf aus dem Gefäß entfernen, indem die Spitze an der Gefäßinnenwand entlanggeführt wird.
   - Den Druckknopf langsam loslassen.
   - Die Spitze durch Drücken des Spitzenabwerfers entfernen.

Wichtig

- Behutsam mit der Pipette umgehen.
- Druckknopf langsam loslassen und nicht schnalzen lassen.
- Drehschraube niemals über Maximal- und Minimaleinstellung drehen.
- Vorderes Ende der Pipettenspitzen muss immer tiefer liegen als die Ansaugöffnung der Pipette.
- Pipette niemals mit gefüllter Spitze hinlegen.
- Es darf niemals Flüssigkeit in den Pipetten Schaft eintreten.

Um Kontaminationen der Reagenzien und der Proben zu vermeiden, wird jeweils eine neue Pipettenspitze verwendet. Pipettieren Sie sorgfältig, da dies erheblichen Einfluss auf den Erfolg des Versuchsergebnisses hat.

5.7.2 Überprüfung der Pipettiergenauigkeit

Der nächste Vorversuch bietet die Möglichkeit, dass die Schüler*innen ihre Pipettiergenauigkeit überprüfen. Die grundlegenden Durchführungsschritte sind nachfolgend und in ◘ Abb. 5.5 beschrieben.

Pipettieren Sie mit der 2,0–20,0 µL-Pipette definierte Volumina an Wasser, bis Sie sich im Umgang mit der Pipette sicher fühlen (Vorversuch). Beispielsweise können 2,4 µL, 10,0 µL und 60,0 µL derselben Flüssigkeit pipettiert werden.

1. Wiegen Sie je drei Eppendorf-Reaktionsgefäße (ERG, 0,2 mL). Notieren Sie sich unbedingt das Leergewicht.
2. Pipettieren Sie in jedes Reaktionsgefäß das gleiche Volumen an Wasser (60,0 µL).
3. Entfernen Sie überschüssige Wassertropfen auf der Außenseite der Pipettenspitze mit einem Reinigungstuch. Achten Sie dabei darauf, die Öffnung der Pipettenspitze nicht zu berühren.
4. Wiegen Sie die Reaktionsgefäße erneut und ermitteln Sie den Mittelwert aus den drei Messungen.
5. Ermitteln Sie die prozentuale Abweichung Ihrer Pipettierreihe.
6. Wiederholen Sie die Messung mit Wasser (2,4 µL) und Glyzerin (10,0 µL).

Anmerkung: Der Fehler einer Pipette beträgt normalerweise deutlich weniger als 1 %.

Tipp

Beim Pipettieren von viskosen Flüssigkeiten kann ein kleiner Teil der vorderen Pipettenspitze abgeschnitten werden. Grundsätzlich ist darauf zu achten, dass keine Luftblasen in der mit Flüssigkeit gefüllten Pipettenspitze zu erkennen sind, da sich dadurch eine erhebliche Abweichung zum Sollvolumen ergibt. Arbeiten Sie äußerst sorgfältig und seien Sie geduldig, da das Pipettieren von viskosen Flüssigkeiten deutlich mehr Zeit in Anspruch nimmt.

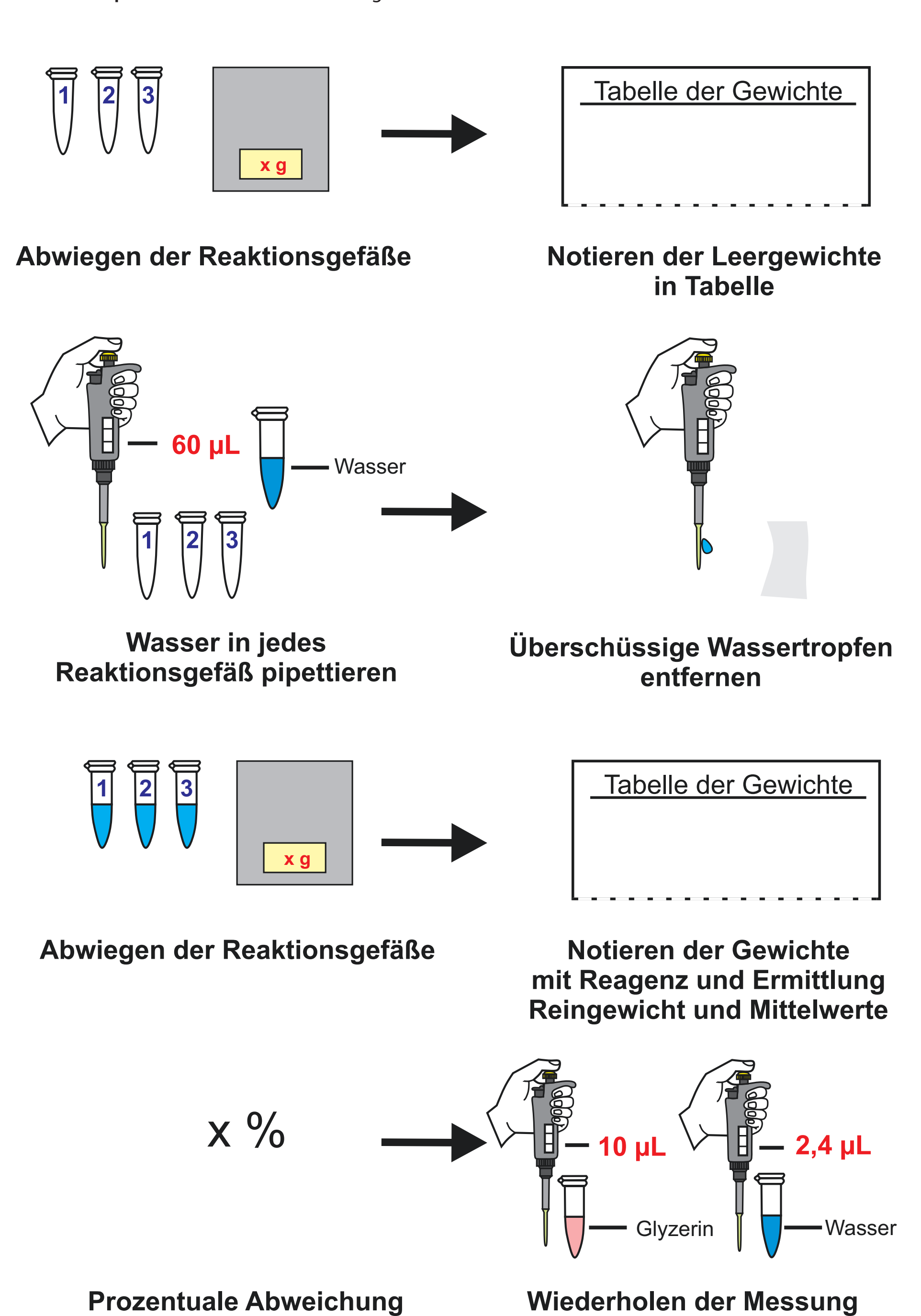


Abb. 5.5 **Überprüfen der Pipettiergenauigkeit.** Pro Reagenz werden jeweils drei ERG verwendet. In jedes Reaktionsgefäß wird das gleiche Volumen der jeweiligen Substanz pipettiert. Es wird H_2O (R1 = 60,0 µL, R2 = 2,4 µL) und Glyzerin (10,0 µL) für diesen Versuch verwendet. Durch Ermittlung des Mittelwerts kann abschließend die prozentuale Abweichung bestimmt werden

Zusammenfassung
In diesem Kapitel finden Sie allgemeine Hinweise, die bei der Umsetzung molekularbiologischer Methoden an der Schule zu beachten sind. Dabei wird das praktische Handling aller Geräte allgemein und explizit erklärt. Da alle Versuche bereits in der Praxis erprobt sind, geht dieses Kapitel ebenfalls auf gängige Hürden bei der praktischen Durchführung ein.

Literatur

Akçayır, G., & Akçayır, M. (2018). The flipped classroom: A review of its advantages and challenges. *Computers & Education, 126*, 334–345.
Arnold, J., Kremer, K., & Mayer, J. (2017). Scaffolding beim Forschenden Lernen. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften: ZfDN, 23*(1), 21–37. https://doi.org/10.1007/s40573-016-0053-0
Dillenbourg, P., & Fischer, F. (2007). Computer-supported collaborative learning: The basics. *Zeitschrift für Berufs-und Wirtschaftspädagogik, 21*, 111–130.
Finkenberg, F., & Trefzger, T. (2019). Umgedrehter Unterricht – Flipped Classroom als Methode im Physikunterricht. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 25*(1), 77–95.
Frey-Eiling, A., & Frey, K. (2011). Das Gruppenpuzzle. In J. Wiechmann (Hrsg.), *Zwölf Unterrichtsmethoden* (5., überarb. Aufl.). Beltz
Harms, U., & Bünder, W. (1999). Zuwachs von Kompetenz erfahrbar machen: Kumulatives Lernen: Erläuterungen zum Modul 5. https://www.schulportal-thueringen.de/get-data/26634e9f-e013-4747-bb69-04cb3c03d937/modul5.pdf
Hmelo-Silver, C. E., & Jeong, H. (2020). Benefits and challenges of interdisciplinarity in CSCL research: A view from the literature. *Frontiers in Psychology, 11*, 579986. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.579986
Jeong, H., Hmelo-Silver, C. E., & Jo, K. (2019). Ten years of computer-supported collaborative learning: A meta-analysis of CSCL in STEM education during 2005–2014. *Educational Research Review, 28*, 100284.
Mayer, J. (2007). Erkenntnisgewinnung als wissenschaftliches Problemlösen. In D. Krüger & H. Vogt (Hrsg.), *Theorien in der biologiedidaktischen Forschung* (S. 177–186). Springer Berlin Heidelberg.
Mayer, J., & Ziemek, H.-P. (2006). Offenes Experimentieren. Forschendes Lernen im Biologieunterricht. *Unterricht Biologie, 30*(317), 4–12.
Preska, A. (2015). *Bedingungen für den Erfolg kooperativer Lernformen: Forschungsstand, Lernwirksamkeit und die Methode des Gruppenpuzzles*. Diplomica.
Tepner, M., Roeder, B., & Melle, I. (2009). Effektivität des Gruppenpuzzles im Chemieunterricht der Sekundarstufe I. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 15*, 7–29.
Vogel, F., & Fischer, F. (2020). Computerunterstütztes kollaboratives Lernen. In H. Niegemann & A. Weinberger (Hrsg.), *Handbuch Bildungstechnologie* (S. 57–80). Springer Berlin Heidelberg.
Wadouh, J., Sandmann, A., & Neuhaus, B. (2009). Vernetzung im Biologieunterricht – deskriptive Befunde einer Videostudie. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften: ZfDN, 15*, 69–87.
Wagner, M., Gegenfurtner, A., & Urhahne, D. (2020). Effectiveness of the flipped classroom on student achievement in secondary education: A meta-analysis. *Zeitschrift für Pädagogische Psychologie, 35*(1), 11–31.
Weinberger, A., Hartmann, C., Kataja, L. J., & Rummel, N. (2020). Computer-unterstützte kooperative Lernszenarien. In H. Niegemann & A. Weinberger (Hrsg.), *Handbuch Bildungstechnologie* (S. 229–246). Springer Berlin Heidelberg.


cc
BY NC



Tatort DNA

Inhaltsverzeichnis

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_6

6.1 Impuls

Von Sherlock Holmes über Akte X bis hin zur deutschen Kultserie „Tatort" begeistern Kriminalgeschichten internationales und regionales Publikum aller Altersklassen. In zahlreichen Filmen, Serien und Büchern wird die Kriminalistik aus unterschiedlichsten Perspektiven beleuchtet und verliert auch nach Jahren weder ihren Charme noch ihre Anziehungskraft. Kriminalromane sind das beliebteste Genre der Deutschen; jedes vierte verkaufte Buch ist ein Krimi (Urbach & Lesch, 2018). 15,08 Mio. Deutsche ab 14 Jahren geben an, gerne regionale Krimis anzuschauen (Pawlik, 2020). Geben Sie Ihren Schüler*innen die Möglichkeit, selbst in Abby Sciutos (Navy CIS) oder Prof. Boernes (Tatort Münster) Rolle zu schlüpfen und mittels PCR und Agarose-Gelelektrophorese bei der Auflösung einer Entführung am Emil-Erlenmeyer Gymnasium mitzuwirken (◘ Abb. 6.1). In diesem vereinfachten Szenario machen Sie sich eine **Deletionsmutation** zunutze; diese erlaubt Ihnen den Versuch sowohl in den Kontext der Kriminalistik als auch der **Pränataldiagnostik** einzuordnen. In ► Abschn. 6.6 wird Ihnen aufgezeigt, wie

Glückstädter Anzeiger

Mysteriöses Verschwinden am Emil-Erlenmeyer-Gymnasium
Wurde Sekretärin Herta Müller entführt?
Die Polizei ermittelt.

Glückstadt, 29.03.2017
Eigentlich wäre Sekretärin Herta Müller (47) am Mittwochnachmittag um 15:30 Uhr zu einer wichtige Dienstbesprechung mit Schuldirektor Thomas Pfeiffer (60) verabredet gewesen. Als langjähriges Mitglied der Schulfamilie galt sie stets als sehr pünktlich.
Nachdem sie nicht zur Besprechung erschien und telefonisch nicht erreichbar war, wurde sofort Alarm geschlagen.

„Wo war Herta Müller?"

Die Glückstädter Polizei nahm sofort die Ermittlungen auf.

Durch die schnellen Ermittlungen der Polizeikommission Glückstadt Süd konnte bereits kurze Zeit später in unmittelbarer Nähe des Gymnasiums der Lieferwagen sichergestellt werden. Auch der Fahrer befand sich noch im Fahrzeug. Die Spurensicherung stellte Haarproben im Wagen sicher.

Bei andauernden Vernehmungen auf dem Schulhof verstrickte sich ein am Gymnasium tätiger Handwerker in Widersprüche. Die Polizei untersuchte daraufhin auch seinen Werkstattkombi und konnten dort ebenfalls Haarproben sicherstellen.

◘ **Abb. 6.1** **Ausschnitt eines thematisch passenden Zeitungsartikels.** Dieser Zeitungsartikel wird Ihnen als didaktisches Begleitmaterial online zu den Versuchen zur Verfügung gestellt

Sie didaktisch vorgehen können, um die Kontexte zu variieren. Dieses Kapitel fokussiert sich auf den Kontext der Kriminalistik und liefert nur für das Szenario Unterrichtsmaterial, allerdings sind an geeigneter Stelle Hinweise zur Variation gegeben.

6.2 Durchführung

Erfahrungsgemäß lässt sich dieser Versuch sehr gut in einer Doppelstunde Biologie umsetzten. Sollte Ihnen keine Doppelstunde zur Verfügung stehen, können Sie den Versuch nach der PCR unterbrechen und ihn in zwei zeitlich voneinander getrennten Stunden durchführen. In ◘ Abb. 6.2 ist die Versuchsübersicht unter Angabe der relevanten Methoden gezeigt. Damit Sie als Lehrkraft einen ersten Eindruck darüber bekommen, wie viel Zeit die praktische Durchführung der einzelnen Teilschritte in Anspruch nimmt, haben wir entsprechende Zeitangaben in die Abbildung integriert. Bitte beachten Sie, dass unsere zeitlichen Einschätzungen je nach Jahrgangsstufe und praktischem Erfahrungsbereich Ihrer Schüler*innen abweichen können.

Es sind über 2000 Mutationen des ***CFTR*** -Gens (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) bekannt, die Mukoviszidose auslösen (Ensinck et al., 2020). Bei der häufigsten Mutation des *CFTR*-Gens handelt es sich um eine Deletionsmutation von drei Nukleobasen, die auf Proteinebene zum Verlust genau einer Aminosäure führt (Eichler, 2005) (► Abschn. 6.5). Die Analytik mittels schultauglicher Agarose-Gele erlaubt keine derart genaue Auftrennung. Zu diesem Zweck wurde der Deletionsabschnitt erweitert, sodass das PCR-Fragment des *CFTR*-Gens 800 Basenpaare (bp) und das Fragment des mutierten Gens 400 bp lang ist. Die verwendeten Primer interagieren mit dem *CFTR*-Gen. Es ist bekannt, dass die entführte Person diese Deletionsmutation im *CFTR*-Gen besitzt. Durch Vergleich der DNA-Banden der Proben A und B mit den jeweiligen Vergleichsproben G und D auf dem Agarose-Gel können die an der Entführung beteiligten Personen eingegrenzt werden. Die Vergleichsproben G und D sind schematisch in ◘ Abb. 6.6 gezeigt.

Im Folgenden wird die Durchführung der Methoden im Detail beschrieben. Zunächst wird die PCR-Reaktion der vier DNA Proben A, B, G und D durchgeführt.

Dabei gilt:

- Probe A und B: entnommene DNA (aus den Lieferwagen der Tatverdächtigen A und B)
- Probe G: Vergleichsprobe eines *CFTR*-Gens (ohne Deletion)
- Probe D: Vergleichsprobe eines mutierten *CFTR*-Gens (mit Deletion)

Sofern Sie im Rahmen der Pränataldiagnostik die Aufklärung eines Gendefekts vornehmen möchten, liegt bei den Proben A und B die entnommene DNA der Mütter A und B vor. Weiteres unter ► Abschn. 6.2.1.

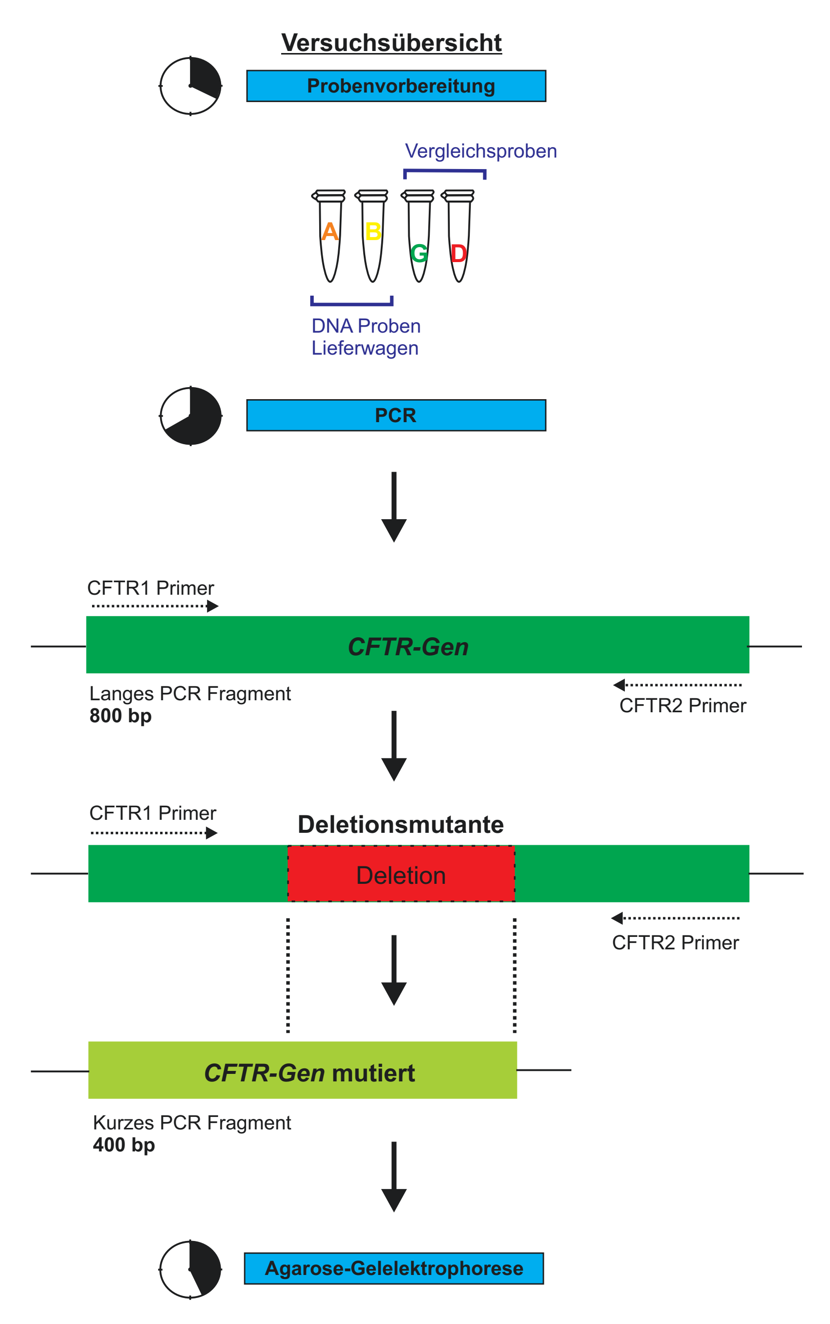


Abb. 6.2 Versuchsübersicht zur Identifizierung der möglichen Tatverdächtigen A oder B. Aus dem genetischen Material, gefunden in den Lieferwagen der Tatverdächtigen A und B, wurde genomische DNA extrahiert. Mit diesen Extrakten sowie den zugehörigen DNA-Vergleichsproben des Gens G und der Deletionsmutante D wird eine PCR-Reaktion durchgeführt. Die unterschiedlichen PCR-Produkte können im zweiten Schritt mittels Agarose-Gelelektrophorese weiter analysiert werden. Das ***CFTR***-Gen ist grün dargestellt. Der rote Bereich markiert den Bereich, welcher bei dem mutierten Gen (hellgrün) deletiert wurde. Die wesentlichen Arbeitsschritte sind blau hervorgehoben

Wichtig

Achten Sie bei der Durchführung auf die allgemeingültigen Prinzipien des sicheren Arbeitens im Labor (sn.pub/rEt5bJ), um Schüler*innen frühzeitig für diese zu sensibilisieren. Es empfiehlt sich, während des gesamten Versuchs Handschuhe zu tragen.

6.2.1 PCR

Jeweils eine Gruppe bereitet die vier PCR Ansätze vor (◘ Abb. 6.3). Pro Gruppe werden 4 PCR-Gefäße benötigt:
1. DNA-Probe A (oranger Deckel).
2. DNA-Probe B (gelber Deckel).
3. DNA Vergleichsprobe *CFTR*-Gen G (grüner Deckel).
4. DNA Vergleichsprobe einer *CFTR*-Deletionsmutante D (roter Deckel).

Wichtig

Beschriften Sie die PCR-Gefäße mit dem entsprechenden Buchstaben A, B, G, D. Sorgfältiges Pipettieren beeinflusst den Erfolg des Versuchsergebnisses.

Wichtig

Sobald ein neues Reagenz pipettiert wird, muss die Pipettenspitze gewechselt werden.

Folgende Reagenzien werden in jedes PCR-Gefäß pipettiert:

Crime Lab Primer Mix ™	10 µL
EZ PCR Master Mix ™	15 µL
DNA-Proben (A, B, G, D)	5 µL
Gesamt	30 µL

Wichtig

Für ein eindeutiges Ergebnis nach der PCR darf nur jeweils eine DNA-Probe pro Ansatz zugegeben werden.

Tipp

Werden mehrere Reagenzien in einen Ansatz pipettiert, empfiehlt sich mit dem größten Volumen zu beginnen. Pipettieren Sie die DNA-Proben immer zum Schluss.

Das Gesamtvolumen jedes Ansatzes beträgt 30 µL. Mischen Sie die Reagenzien durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren. Achten Sie darauf, die PCR-Gefäße richtig zu verschließen, da es sonst im Thermozykler zu einer Verdunstung der Reaktionsflüssigkeit kommen kann. Die vorbereiteten PCR-Proben werden dann kurz zentrifugiert, ca. drei Sekunden.

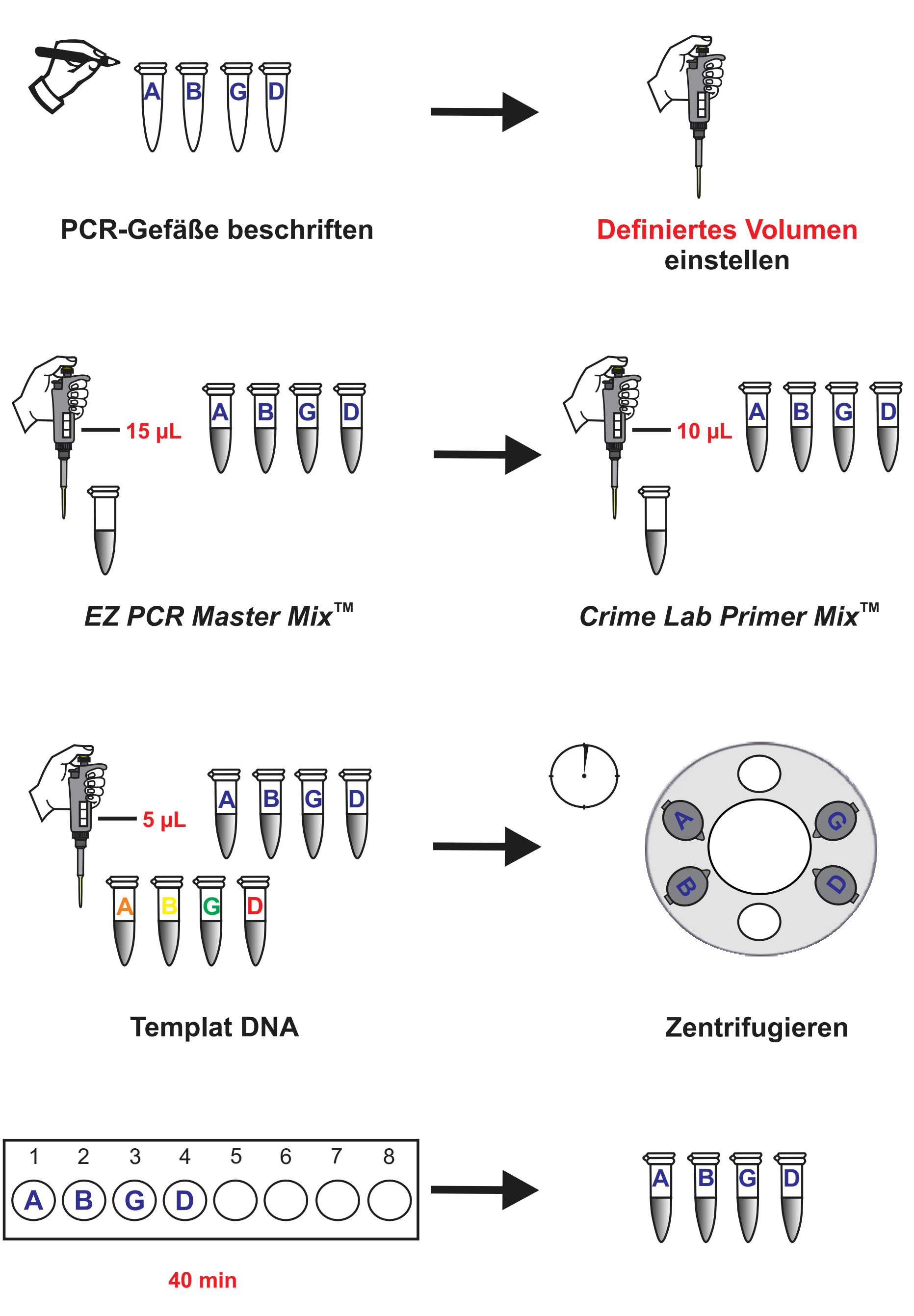


Abb. 6.3 Vorbereitung und Durchführung der PCR. Insgesamt werden vier Ansätze A, B, D und G vorbereitet. Pro Ansatz werden 15,0 µL *EZ PCR Master Mix* ™ und 10,0 µL *Crime Lab Primer Mix* ™ in ein PCR-Gefäß pipettiert. Zuletzt werden pro PCR-Gefäß 5,0 µL der entsprechenden **Template-**DNA (A, B, G oder D) zugegeben. Nach Zentrifugation der Proben wird die PCR durch Auswahl des Tatort DNA-Protokolls gestartet. Die PCR-Produkte können weiterverwendet oder im Kühlschrank gelagert werden

Wichtig

Achten Sie darauf, dass die Zentrifugen von den Schüler*innen korrekt beladen werden. Nur dann kann eine sichere Benutzung gewährleistet werden (► Abschn. 5.5).

Abschließend werden die PCR-Proben in den Thermozykler gestellt und der Deckel des Geräts verschlossen. Überprüfen Sie, dass das Gerät während der Beladung ausgeschaltet ist.

Wichtig

Zum Arretieren des Deckels ist ein zusätzlicher Drehknauf vorhanden. Dieser ist sehr empfindlich. Drehen Sie nicht weiter, sobald Sie einen kleinen Widerstand spüren, sonst bricht der Drehknauf ab.

Für die PCR wird das bereits gespeicherte *Tatort DNA*-Protokoll verwendet (► Abschn. 5.3). Nach Auswahl des Programms klicken Sie auf *upload*. Der Name Ihres PCR-Geräts erscheint in einem Pop-Up Fenster. Die Parameter des PCR-Programms sind in ◘ Tab. 6.1 gezeigt, diese können Sie vorab speichern. Da Ihr Gerät ausgeschaltet ist, wird oben links in Ihrem Versuchsfenster *no power* angezeigt. Schalten Sie Ihr Gerät jetzt ein. Die Thermozykler merken sich das zuletzt genutzte Programm. Durch das Anschalten des Geräts nach *upload* des Programms stellen Sie sicher, dass der Thermozykler kein anderes Programm startet. Die PCR-Reaktion kann am Monitor in Echtzeit verfolgt werden.

Tipp

Während die PCR-Reaktion läuft, können die Agarose-Gele vorbereitet werden.

Die Dauer der 30 Zyklen beträgt 9 min (18 sec pro Zyklus, ◘ Tab. 6.1). Unter Berücksichtigung der *initial denaturation*, den Temperaturänderungen zwischen den Schritten sowie der *final extension* ist die PCR nach 40 min abgeschlossen. Dies wird durch einen Klingelton angezeigt, auf dem Display erscheint *status completed*. Die PCR-Gefäße können jetzt aus dem Gerät entfernt werden.

◘ **Tab. 6.1** **Einstellungen des PCR-Programms für *Tatort DNA*.** Die mit * markierten Schritte geben einen PCR-Zyklus an. Die Gesamtzahl der Zyklen ist unter *number of cycles* angegeben.

PCR-Programm	Temperatur [°C]	Zeit [s]
initial denaturation	94	30
denaturation *	94	5
annealing *	57	5
extension *	72	8
final extension	72	30
heated lid	ON	
number of cycles	30	

Vorsicht: Der Metalldeckel kann noch heiß sein.

Die Proben können nun direkt weiterverwendet oder im Kühlschrank gelagert werden.

6.2.2 Agarose-Gel-Herstellung

Als nächstes erfolgt die Herstellung eines 1,6 %-igen Agarose-Gels (◼ Abb. 6.4).

Es bietet sich an, die Agarose-Gele während der Durchführung der PCR zu gießen, um die Zeit optimal auszunutzen (s.o.).

Tipp

In diesem Versuch können zwei vollständige Versuchsansätze auf ein Gel aufgetragen werden. Ein Versuchsansatz umfasst die vier Proben A, B, D und G. Zusätzlich wird pro Agarose-Gel ein DNA-Größenstandard aufgetragen.

Bereiten Sie eine saubere und trockene Gel-Gießapparatur vor und legen Sie einen Probenkamm bereit (► Abb. 5.3).

Agarose	0,48 g
1x TBE-Puffer	30 mL
gel staining dye	3,0 µL

Wichtig

Den Farbstoff *(gel staining dye)* erst nach dem Abkühlen hinzugeben.
Pro 10,0 mL Agarose-Lösung werden 1,00 µL *gel staining dye* benötigt.

Die Mischung wird zum Lösen der Agarose kurz in der Mikrowelle aufgekocht. Eine klare Lösung zeigt ein vollständiges Lösen der Agarose an. Um einen Siedeverzug zu vermeiden, kann der Vorgang in der Mikrowelle unterbrochen und der Erlenmeyerkolben mehrmals geschwenkt werden. Kühlen Sie die homogene Mischung unter fließendem Wasser bis zur Handwärme ab.

Die Lösung wird dann in die Gel-Gießapparatur überführt. Stecken Sie den Probenkamm in die vorgesehene Halterung.

Tipp

Kleine Luftblasen im Gel können mit einer Pipettenspitze entfernt werden.

Nach 15–20 Minuten ist das Gel vollständig verfestigt. Entfernen Sie den Probenkamm vorsichtig.

Die Agarose-Gele können direkt für die Elektrophorese verwendet werden.

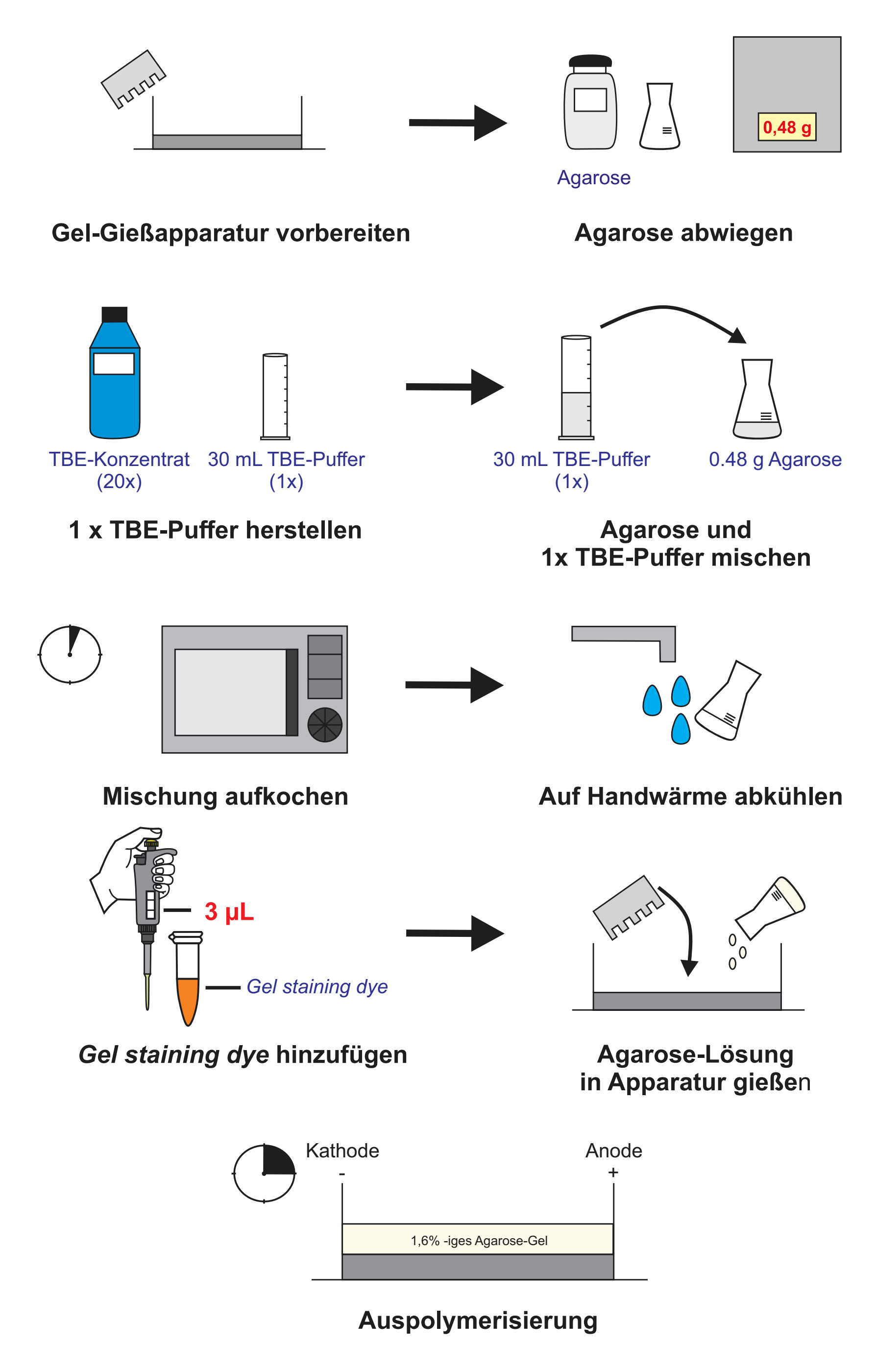


Abb. 6.4 Herstellung von Agarose-Gelen für die Gelelektrophorese. Für *Tatort DNA* werden 1,6 %-ige Agarose-Gele benötigt. Dafür werden 30,00 mL 1x TBE-Puffer mit 0,48 g Agarose versetzt. Durch kurzes Aufkochen entsteht eine homogene, klare Lösung, welche nach Abkühlen auf Handtemperatur mit 3 µL *gel staining dye* versetzt wird. Die Agarose-Lösung wird in die Gel-Gießapparatur überführt und der Probenkamm in die Halterung gesteckt. Die Auspolymerisierung des Gels dauert etwa 15 Minuten

Tipp

Agarose-Gele können bis zu einem Tag im Kühlschrank gelagert werden. Wickeln Sie diese dafür erst in Frischhaltefolie und dann in Alufolie ein. Damit schützen Sie die Gele vor dem Austrocknen und den enthaltenen Farbstoff vor Schädigung durch Lichtstrahlung.

6.2.3 Agarose-Gelelektrophorese

Der letzte Schritt des Versuchs ist die Analyse der PCR-Proben mittels Agarose-Gelelektrophorese (◘ Abb. 6.5).

Die Agarose-Gele können im Schlitten in die Elektrophoresekammern überführt werden.

1x TBE-Puffer zum Überschichten	35 mL
Pro DNA-Probe (A, B, G, D)	20 µL
DNA-Größenstandard	12 µL

Wichtig
Vor dem Auftragen der Proben werden die Agarose-Gele jeweils mit 30 mL 1x TBE-Puffer überschichtet. Nutzen Sie maximal 35 mL 1x TBE-Puffer zum Überschichten der Gele in der Elektrophoresekammer, da der Puffer sonst überläuft!

Wichtig
Pro Agarose-Gel können acht PCR-Proben und ein DNA-Größenstandard aufgetragen werden. Es empfiehlt sich, den DNA-Größenstandard mittig zwischen die vier PCR-Proben von Gruppe 1 und Gruppe 2 aufzutragen.

Wichtig
Vermeiden Sie Berührungen mit Ihrer Pipettenspitze beim Auftragen der Proben am Boden der Probenkammer, da diese sonst beschädigt wird (► Abschn. 5.4.2).

Wichtig
Notieren Sie sich die Reihenfolge, in der Sie die Proben aufgetragen haben.

Verschließen Sie die Elektrophoresekammer. Drücken Sie den *run*-Knopf und führen Sie die Elektrophorese für 15–20 min durch.

Achten Sie darauf, dass die Banden des DNA-Größenstandards im Bereich 400–800 bp gut aufgelöst, d. h. gut sichtbar voneinander getrennt sind.

Nach ca. 15–20 min ist die Gelelektrophorese abgeschlossen. Das Gerät kann jetzt ausgeschaltet werden.

Tipp

Die Auftrennung der DNA Proben kann durch Betätigung des *illuminator*-Knopfs auf dem Gerät während der Gelelektrophorese verfolgt werden. Wird das Licht zu häufig während der Auftrennung angeschaltet oder dauerhaft angelassen, kann das zum Ausbleichen der Proben führen.

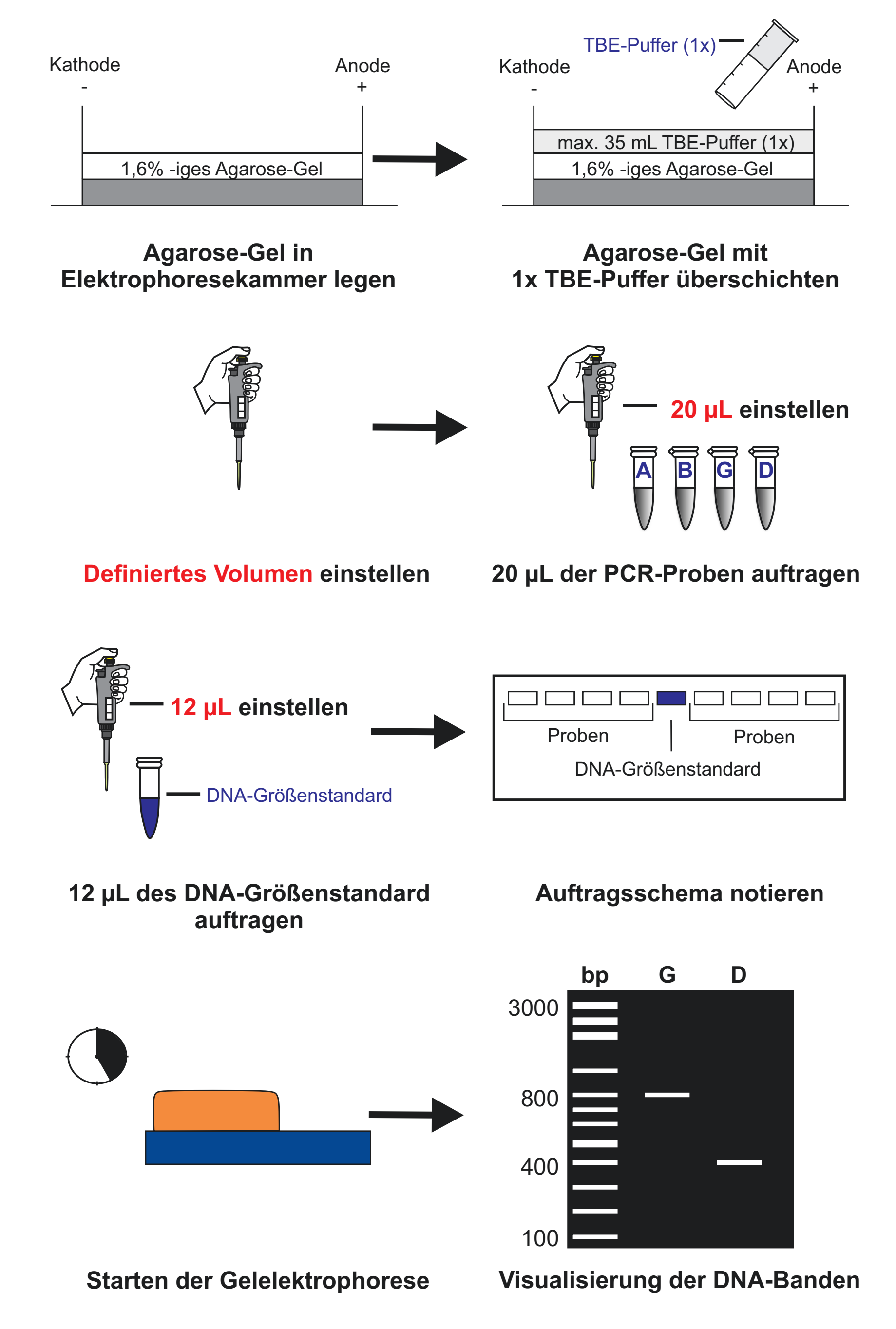


Abb. 6.5 **Durchführung der Agarose-Gelelektrophorese.** Die Agarose-Gele werden in die Elektrophoresekammern überführt und dort mit 1x TBE-Puffer überschichtet, bevor die PCR-Proben aufgetragen werden. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe eines DNA-Größenstandards. Bp = DNA-Größenstandard 100 bp, G = DNA Vergleichsprobe *CFTR*-Gen, D = DNA Vergleichsprobe *CFTR*-Gen einer Deletionsmutante

Drücken Sie nach Beendigung der Elektrophorese den *illuminator*-Knopf und dokumentieren Sie pro Gruppe Ihr Ergebnis. Die Agarose-Gele können mit dem Smartphone fotografiert werden.

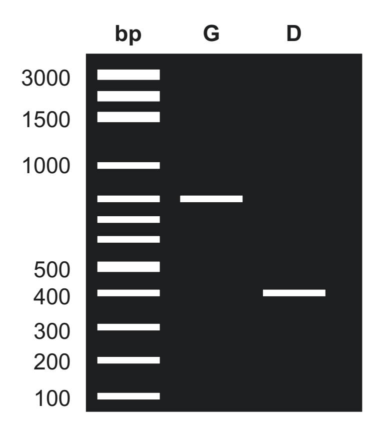
6.3 Ergebnisinterpretation

In diesem letzten Schritt können die DNA-Banden im Agarose-Gel analysiert werden. Je kleiner die DNA-Fragmente sind, desto schneller wandern sie im Agarose-Gel nach unten. Große DNA-Fragmente werden durch die Agarose-Matrix stärker zurückgehalten und sind nach der Gelelektrophorese demnach weiter oben im Agarose-Gel zu finden (► Abschn. 3.2). Durch den Vergleich der DNA-Fragmente mit den definierten Banden des DNA-Größenstandards kann die Anzahl der Basenpaare in den Proben abgeschätzt werden. Der Vergleich der Laufweiten der DNA-Proben A und B mit den Kontrollproben ermöglicht dann eine Interpretation des Ergebnisses.

Ihr gewähltes Szenario beeinflusst die Ergebnisinterpretation. Entweder können Sie einen begründeten Verdacht zum Tathergang abgeben. Alternativ können Sie im Rahmen der Pränataldiagnostik eine Aufklärung zu vorliegenden Gendefekten vornehmen (► Abschn. 6.2).

Im Vergleich zu den Genen sind die PCR-Produkte der Deletionsmutanten auf dem Agarose-Gel als kleineres PCR-Fragment zu erkennen. Entsprechend kann die DNA-Probe D (Deletionsmutante) bei etwa 400 bp lokalisiert werden. Die Kontrolle G liefert bei etwa 800 bp eine DNA-Bande (◘ Abb. 6.6). Entsprechend können folgende Ergebnisse für den Genotyp und Phänotyp abgeleitet werden ◘ Tab. 6.2.

Wie im späteren ► Abschn. 6.5 erklärt wird, sind sehr viele verschiedene Mutationen bekannt, die zu Mukoviszidose führen können. In diesem unterrichtlichen Kontext wird nur eine mögliche Deletionsmutation betrachtet, allerdings sollten Sie sich als Lehrkraft über die anderen Mutationen im Klaren sein. Dieses komplexe Zusammenspiel könnte an dieser Stelle gut angesprochen werden.



◘ **Abb. 6.6 Schematische Darstellung des 1,6 %-igen Agarose-Gels der DNA-Vergleichsproben G und D.** Bp = DNA-Größenstandard 100 bp, G = DNA Vergleichsprobe *CFTR*-Gen, D = DNA Vergleichsprobe *CFTR*-Gen einer Deletionsmutante

◘ Tab. 6.2 Ergebnisinterpretation Genotyp und abgeleiteter Phänotyp		
Versuchsergebnis	**Genotyp**	**Phänotyp**
PCR Produkt (800 bp)	II (**homozygot**)	Chlorid-Ionenkanal funktional
PCR Produkt (400 bp)	ii (homozygot)	Chlorid-Ionenkanal defekt

Der Erfolg des Versuchs kann maßgeblich durch Vermeiden einiger möglicher Fehlerquellen gesteigert werden. Diese werden im ► Kap. 5 bei der allgemeinen Durchführung der Methoden explizit mit Lösungsvorschlägen erläutert.

6.4 Checkliste

Im Folgenden finden Sie eine Auflistung aller notwendiger Reagenzien und Lösungen, sowie Hinweise zu deren Herstellung.

Für einen reibungsfreien Ablauf der praktischen Einheit in Ihrem Unterricht können Sie mehrere Vorbereitungen vornehmen. Genauere Informationen dazu entnehmen Sie bitte ► Kap. 5. Diese sind für ► Kap. 6, 7, 8, und 9 identisch.

Die Angaben und Empfehlungen in diesem Kapitel werden häufig in Gruppen angegeben. Diese sind darauf ausgerichtet, den Versuch einmal vollständig durchzuführen. Sie können individuell entscheiden, mit welcher Gruppenstärke Sie die Versuche durchführen wollen. In diesem Teil empfiehlt sich, maximal in Vierergruppen einzuteilen, da so jede*r Schüler*in mindestens eine Probe vollständig pipettieren kann.

6.4.1 Reagenzien

- *EZ PCR Master Mix™ (2x), Load Ready™* (miniPCR™, USA): PCR-Puffer, Mg^{2+} Ionen, *Taq*-DNA-Polymerase, dNTPs (Deoxynukleosidtriphosphate), DNA-Auftragspuffer, 2x konzentriert
- *Crime Lab Primer Mix, Load Ready™* (miniPCR™, USA): $Primer_{vorwärts}$, $Primer_{rückwärts}$

In ◘ Tab. 6.3 finden Sie Angaben, wie Sie die Reagenzien an eine Gruppe ausgeben können.

Tab. 6.3 Angaben über Volumina der Reagenzien zur Ausgabe an eine Gruppe

Reagenz	Aliquot	Volumen [µL]
EZ PCR Master Mix™	1	70
Crime Lab Primer Mix	1	50
DNA-Proben (A, B, G, D)	je 1	je 10

Tab. 6.4 Herstellung von 1x TBE-Puffer unterschiedlicher Volumina

Reagenz	Volumen Konzentrat [mL]	Volumen dest. Wasser [mL]
TBE 10x konzentriert	10	90
TBE 20x konzentriert	5	95
TBE 10x konzentriert	100	900
TBE 20x konzentriert	50	950

Alternativ kann auch TAE-Puffer verwendet werden

6.4.2 TBE-Puffer

Für die Agarose-Gel-Herstellung und die Agarose-Gelelektrophorese müssen Sie 1x TBE-Puffer herstellen. Tab. 6.4 zeigt, wie Sie abhängig von dem Konzentrat 1x TBE-Puffer herstellen. Bei der Herstellung wird destilliertes Wasser verwendet.

Wichtig

Pro Agarose-Gel werden 30 mL 1x TBE-Puffer für seine Herstellung benötigt. Für die Agarose-Gelelektrophorese werden weitere 30 mL 1x TBE als Laufpuffer verwendet. Hierzu wird jedes Agarose-Gel vor dem Auftragen der Proben mit 30 mL 1x TBE-Puffer überschichtet.

Entsprechend ist die benötigte Menge an 1x TBE-Puffer direkt von der Menge benötigter Gele abhängig. Wie Sie bei der Berechnung vorgehen und nähere Informationen zur individuell benötigten Menge an 1x TBE-Puffer finden Sie unter ► Abschn. 6.4.3.

Wichtig

Der 1x TBE-Puffer kann bei Raumtemperatur gelagert werden. Eine Verwendung ist so lange möglich, wie keine Flocken in der Lösung erkennbar sind.

6.4.3 Agarose-Gel-Herstellung

Für die Herstellung der Agarose-Gele können Sie sich an ◘ Abb. 6.4 orientieren.

- Agarose für DNA-Elektrophorese (SERVA, Deutschland)
- TBE-Puffer (SERVA, Deutschland): Tris, EDTA-Na_2- Salz, Borsäure
- DNA-Stain GelGreen® *nucleic acid gel stain* (miniPCR™, USA): 10.000x in Wasser
- DNA-Größenstandard (miniPCR™, USA): 12 Banden im Bereich von 100–3000 bp

Alternativ kann TAE-Puffer (Tris, EDTA-Na_2- Salz, Essigsäure; SERVA, Deutschland) verwendet werden.

Tipp

Für den schulischen Gebrauch empfiehlt sich TBE-Puffer zu verwenden:

- Die vollständige Auspolymerisierung des Agarose-Gels verläuft im Vergleich zur Verwendung von TAE-Puffer schneller.
- Agarose-Gele mit TBE-Puffer sind bei der Handhabung weniger empfindlich.

Wichtig
Achten Sie darauf, dass sich die Agarose für die DNA-Analyse mittels Elektrophorese eignet.

Die nötigen Angaben für ein 1,6 % -iges Agarose-Gel entnehmen Sie aus ◘ Tab. 6.5.

Wichtig
Tragen Sie Handschuhe bei der Herstellung und Beladung der Agarose-Gele.

Bei diesem Versuch können pro Gel acht Proben und ein DNA-Größenstandard aufgetragen werden. Entsprechend können sich jeweils zwei Gruppen ein Gel teilen.

Die Anzahl der benötigten Agarose-Gele berechnet sich wie folgt:

$$Anzahl\ Gele\ für\ 2\ Gruppen = \frac{Gesamtanzahl\ Gruppen \times 4}{8} = \frac{Gesamtanzahl\ Gruppen}{2} \tag{6.1}$$

◘ **Tab. 6.5 Angaben zur Herstellung eines 1,6 %-igen Agarose-Gels**

Konzentration [%]	Agarose [g]	TBE-Puffer (1x) [mL]	DNA-Stain * [µL]
1,6	0,48	30	3

* Der DNA Stain wird im Verhältnis 1:10.000 zum verwendeten Puffer eingesetzt

Berechnungsbeispiel:

Bei einer Klasse mit 24 Schüler*innen (entspricht zwölf 2er-Gruppen) werden sechs Gele benötigt. Die nötige Menge an TBE-Puffer (1x konzentriert) in mL lässt sich wie folgt berechnen:

$$TBE_{Puffer}\ mL = \left(Anzahl\ Gele\ x\ 60\ mL\right) + 60\ mL \tag{6.2}$$

Bei sechs Gelen benötigen Sie demnach 420 mL einer einfach konzentrierten TBE-Puffer Lösung. In dieser Angabe ist die Menge an TBE-Puffer für das Gießen der sechs Agarose-Gele sowie für die Verwendung als Laufpuffer in der Agarose-Gelelektrophorese einkalkuliert. Zudem werden bei dieser Berechnung zwei Fehlversuche bei der Agarose-Gel Herstellung mitberücksichtigt. Anhand der Beispielrechnung würden Sie sich 500 mL 1x TBE-Puffer herstellen. Ausgehend von einem 10x TBE-Konzentrat würden Sie für die Herstellung 50 mL 10x TBE-Konzentrat mit 450 mL destilliertem Wasser versetzten, um so Ihren 1x TBE-Puffer zu erhalten. Der Rechenweg ist nachfolgend dargestellt. Zur Herstellung des 1x TBE-Puffers lässt sich die benötige Menge an TBE-Konzentrat in mL wie folgt berechnen:

$$Menge\ TBE_{Konzentrat}\ mL = \frac{Gesamtvolumen\ 1x\ TBE - Puffer\ mL}{Faktor\ des\ Konzentrats} \tag{6.3}$$

Für unser Beispiel ergeben sich so:

$$Menge\ 10x\ TBE_{Konzentrat}\ mL = \frac{500\ mL}{10} = 50\ mL \tag{6.4}$$

Die Menge an destilliertem Wasser in mL ergibt sich dann wie folgt:

$$Menge\ H_2O_{dest.}\ mL = Gesamtvolumen\ 1x\ TBE - Puffer\ mL - Menge\ TBE_{Konzentrat}\ mL \tag{6.5}$$

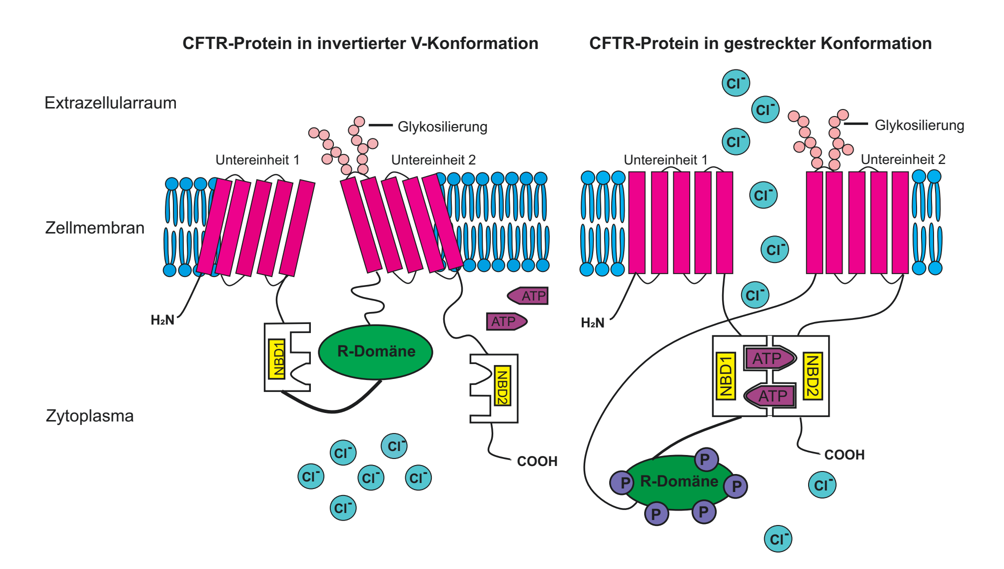
Bezogen auf unser Beispiel ergibt sich:

$$Menge\ H_2O_{dest.}\ mL = 500\ mL - 50\ mL = 450\ mL \tag{6.6}$$

6.5 Fachwissenschaftliche Information für Lehrkräfte

Bei der Zystischen Fibrose, welche auch unter dem Namen Mukoviszidose bekannt ist, handelt es sich um eine autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung (Farrell et al., 2017). Diese ist innerhalb der nördlich-europäisch abstammenden Populationen die am häufigsten vertretene Erbkrankheit (Gadsby et al., 2006; Liu et al., 2017).

Das CFTR-Protein fungiert als integrales Ionenkanalprotein und hält hierbei die korrekte Funktion der Lunge, Bauchspeicheldrüse und des Darms aufrecht (Zhang et al., 2018). Es konnte gezeigt werden, dass je nach vorliegendem Zustand des Ionenkanals (geschlossen oder geöffnet) das CFTR zwei unterschiedliche **Konformation**en einnehmen kann (◘ Abb. 6.7). Ist der Kanal geschlossen, besitzt das



■ **Abb. 6.7 Schematische Abbildungen des humanen CFTR-Proteins in geschlossener und geöffneter Konformation.** Die schematische Darstellung des Ionenkanal-Proteins erfolgt mit Einbettung in die Phospholipid-Doppelmembran. Das CFTR-Protein besteht aus zwei Untereinheiten, die jeweils aus zwei Transmembrandomänen aufgebaut sind. Die Rechtecke in Magenta stellen dabei die Transmembranhelices dar. **Links:** Im geschlossenen Zustand (dephosphoryliert, ATP-ungebundenen) nimmt das CFTR eine invertierte V-Konformation ein. **Rechts:** Bei geöffnetem Ionenkanal (phosphoryliert, ATP-gebunden) ist die Struktur dagegen kompakt und vergrößert. Die R-Domäne (Regulierende Domäne, grün) wird durch die Proteinkinase A phosphoryliert und ändert dadurch ihre Konformation. Die ATP-abhängige Dimerisierung der Nukleotidbindedomänen (NBD1 und NBD2, gelb) bedingt eine konformationelle Änderung der kompletten CFTR-Struktur. Der Ionen-Kanal öffnet sich, wodurch ein Abtransport der Chlorid-Ionen in den Extrazellularraum möglich wird

CFTR-Protein eine invertierten V-Struktur (Liu et al., 2017). Die R-Domäne ist hierbei dephosphoryliert und verhindert sterisch die Bindung von ATP an die **Nukleotidbindedomänen** (NBDs, ■ Abb. 6.7, links). Folglich ist die zur Öffnung des Ionenkanals erforderliche **Dimerisierung** der NBD1 mit der NBD2 ausgeschlossen (Zhang et al., 2018). Die durch Proteinkinase A induzierte strukturelle Veränderung der regulierenden Domäne leitet die ATP-abhängige Dimerisierung der Nukleotidbindedomänen ein (■ Abb. 6.7, rechts). Im Vergleich zur invertierten V-Konformation nimmt CFTR eine kompakte vergrößerte Struktur ein. Die konformationelle Änderung führt zur Öffnung des Membrankanals (Zhang et al., 2018) (■ Abb. 6.7, rechts).

Durch Mutationen im *CFTR*-Gen kann eine Fehlfunktion des zur Transporterklasse gehörenden integralen Ionenkanal-Proteins hervorgerufen werden, welches am Transport von Chlorid-Ionen durch die Zellmembran beteiligt ist (Csanády et al., 2005; Riordan et al., 1989).

Die Fähigkeit des mutierten CFTR-Proteins, den Wasser- und Salztransport in der Plasmamembran und Epithelzellen zu regulieren, ist dadurch nicht mehr gegeben. Folglich ist der Abtransport von Chlorid-Ionen eingeschränkt oder kommt zum

Erliegen. Dadurch verändert sich die Zusammensetzung einer Vielzahl von Sekreten, z. B. Bronchialsekret, Sekret der Bauchspeicheldrüse und der Galle, ins Zähflüssige. In den betroffenen Organen führt dies zu unterschiedlichen Funktionsstörungen, welche häufig mit Atemwegsbeschwerden einhergehen. Größtenteils kann die Todesursache auf chronische bakterielle Infektionen oder Lungenentzündung zurückgeführt werden, welche durch die Mucusbildung entstehen (Gadsby et al., 2006).

Bis heute konnten mehr als 2000 Zystische Fibrose verursachende Mutationen identifiziert werden (Ensinck et al., 2020). Darunter können zwei Drittel aller Erkrankungen mit Zystischer Fibrose auf eine einzelne **Punktmutation** im CFTR zurückgeführt werden (Gadsby et al., 2006). Die bekannteste Mutation ΔF508 ist in NBD1 lokalisiert und führt durch Verlust der Aminosäure Phenylalanin an Position 508 der AS-Sequenz zu einer anormalen Faltung des Proteins. Dadurch wird dieses im **Proteasom** abgebaut und nicht in die Zellmembran integriert (Lewis et al., 2005; Riordan et al., 1989). Die Ausbildung des Ionen-Kanals ist in diesem Fall nicht mehr möglich.

Das vollständige Fehlen des CFTR-Proteins, verkürzte Varianten, sowie ein komplett ausgebildeter Ionenkanal mit reduzierter Chlorid-Ionen-Kapazität sind mutative Folgen, welche ebenfalls Zystische Fibrose auslösen (Gadsby et al., 2006). Es gibt bis heute keine Heilungsmöglichkeiten der Krankheit. Die Lebenserwartung von Patienten mit Zystischer Fibrose liegt bei circa 40 Jahren (Zhang et al., 2018). Um zukünftig personalisierte Medikamente entwickeln zu können, versuchen Wissenschaftler, die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen der Mutationen zu verstehen.

6.6 Didaktische Überlegungen für Ihren Unterricht

6.6.1 Lehrplanbezug und Kompetenzförderung

Mit diesem Modul können wichtige Standardmethoden der DNA-Analyse praktisch durchgeführt werden (► Kap. 3). Zugunsten einer schnelleren Durchführung und einer deutlich vereinfachten Handhabung wird hier mit vorgefertigten DNA-Proben gearbeitet. Dies hat zur Folge, dass die ausgelassenen Schritte der Probenaufbereitung ggf. im Unterricht angesprochen werden sollten, um den Wechsel von der Phänotyp- zur Gen-Ebene explizit zu machen und damit Verständnisschwierigkeiten grundlegender Begriffe der Genetik vorzubeugen (► Abschn. 6.6). Der persönliche Bezug durch die eigene DNA-Extraktion entfällt in diesem Fall. Entsprechende Angaben zur Durchführungsdauer und Variationen finden Sie in ► Abschn. 6.2.

Diese besondere Vereinfachung erlaubt es, diesen Versuchsteil bereits in der 9. Jahrgangsstufe umzusetzen und dort frühzeitig unter der Perspektive des naturwissenschaftlichen Arbeitens in die Handhabung technischer Geräte im Labor einzuführen.

Beim schülerorientierten Kontext Kriminalfall handelt es sich lediglich um einen Vorschlag. Das biologische Konzept der Erbkrankheit am Beispiel der Zys-

tischen Fibrose knüpft in diesem Zusammenhang an zentrale Aspekte zur Genetik und Vererbung an und eröffnet die Perspektive zur Lebenswelt und zu gesellschaftlich relevanten Fragestellungen. Diese und ähnliche Krankheiten werden z. B. im bayerischen Lehrplan genannt (ISB, 2015) und können dem Basiskonzept Entwicklung (Reproduktion) zugeordnet werden. Neben Zystischer Fibrose eignet sich auch jeder andere genetische Kontext, der auf einer Deletion basiert. Wenn Sie den Versuch in die Auflösung eines Kriminalfalls einbetten wollen, können sie zusätzlich mit Ihren Schüler*innen die Zulässigkeit solcher Indizien vor Gericht diskutieren. Nach deutschem Gesetz ist die Analyse der DNA hinsichtlich personenbezogener Eigenschaften als Beweismittel unzulässig, weshalb sich die Kriminalistik bei ihren Analysen auf nicht-kodierende Bereiche der DNA bezieht (Hohoff & Brinkmann, 1999), beispielsweise bezieht das FBI (*Federal Bureau of Investigation*) 13 STR-loci (***short tandem repeat***) in ihre DNA-Analyse mit ein (McNamara-Schroeder et al., 2006).

Ein weiterer Kontext, der sich in diesem Fall anbietet, ist die Pränataldiagnostik. Bei der Chorionzottenbiopsie, einem invasiven Verfahren, können genetische Veränderungen beim Kind vor der Geburt festgestellt werden. Zu den identifizierbaren Krankheiten gehört neben den verschiedenen Trisomien auch Mukoviszidose (Weichert & Eckmann-Scholz, 2012). In diesem Szenario könnten Sie in Ihrer Unterrichtsreihe auch ethische Gesichtspunkte berücksichtigen. Ändern Sie einfach die Beschriftungen der vorgefertigten DNA-Proben ► Abschn. 6.2.1 von „Täter“ zu „Mutter“, dann können Sie entsprechend die DNA aus zwei verschiedenen Chorionzottenbiopsien miteinander vergleichen.

Mit der variablen Kontextgestaltung in diesem Modul können Sie verschiedene Lernbereiche adressieren. Mögliche Kompetenzerwartungen sind exemplarisch mit Beispielen aus dem bayerischen Lehrplan in ◘ Tab. 6.6 gezeigt. Insgesamt lässt sich dieses Modul sehr gut in seiner thematischen Tiefe variieren. Durch das einfache Handling und die schnelle Durchführung können Sie entweder den Fokus vollkommen auf die Einübung der molekularbiologischen Methoden legen oder zusätzlich genetische Aspekte bis hin zur Ethik einbeziehen.

◘ **Tab. 6.6 Lernbereiche und Kompetenzerwartungen am Beispiel *Tatort DNA***

Lernbereich/ Thema	**Relevante Kompetenzerwartungen und Inhalte**
Speicherung und Realisierung genetischer Information	Schüler'innen erläutern die Aufgaben und das Zusammenwirken von Proteinen bei der Ausbildung von Merkmalen, Genwirkkette *Das Krankheitsbild Mukoviszidose mit den Symptomen der Schleimbildung (Mucus) und daraus resultierendem Husten (Phänotyp-Ebene) ist auf eine Fehlfunktion eines Chlorid-Ionenkanals zurückzuführen (submikroskopische Phänotyp-Ebene). Viele verschiedene Mutationen sind bekannt, die zu einer strukturellen Veränderung des Ionenkanal-Proteins führen (Gen-Ebene).*

(Fortsetzung)

Tab. 6.6 (Fortsetzung)

Lernbereich/ Thema	**Relevante Kompetenzerwartungen und Inhalte**
Veränderung genetischer Information	Genmutationen: Austausch, Verlust oder Einschub von Nukleotiden; Ursachen von Genmutationen (Mutagene) und Auswirkungen auf die Proteinfunktion *Mukoviszidose als Beispiel, dass viele verschiedene Mutationsarten (Gen-Ebene) zu einer fehlerhaften Proteinstruktur führen können (submikroskopische Phänotyp-Ebene), die wiederum zu ähnlichen (gleichen) Symptomen (Mukoviszidose) führen (Phänotyp-Ebene). Diese Reflexion kann helfen zu verstehen, dass im genetischen Bereich selten ein 1:1-Verhältnis von Ursache-Wirkung besteht.*
Genetik menschlicher Erkrankungen und DNA-Analytik	Schüler*innen erläutern die Bedeutung der DNA-Analytik beim Menschen in medizinischen sowie gesellschaftlichen Kontexten. Sie analysieren und bewerten sie unter ethischen Gesichtspunkten. Genetisch bedingte Krankheiten; ethische Gesichtspunkte: z. B. Feststellung der Identität, Massengentests, Gentests als Teil von Gesundheitsprüfungen *Reflektion des PCR-basierten Gentests zur Analyse einer voraussichtlichen Genmutation (Trisomie 21, Mukoviszidose). Das bietet sich v. a. dann an, wenn Sie nicht das Täter-Szenario, sondern das Mütter-Szenario mit der Pränataluntersuchung wählen.* *Reflexion der DNA-Analyse zu Zwecken der Kriminalistik. Personenmerkmale dürfen bei Gentests nicht herangezogen werden, weil die nicht aussagekräftig genug sind. DNA gilt nur als Indizienbeweis, ethische Aspekte.*

6.6.2 Schülerorientierung

Ausgehend von den fachwissenschaftlichen Grundlagen des Kontextes und den realen Ermittlungsmethoden der Polizei können lehrplanrelevante Begriffe der Genetik aufgegriffen und zur Kompetenzförderung mit den Schüler*innen reflektiert werden (► Abschn. 6.6.1). Die Einbindung dieser Versuche in einen forensischen Kontext ermöglicht die Reflexion der Begriffe *Phänotyp* und *Genotyp*, deren Unterscheidung Schüler*innen häufig schwerfällt (Kattmann, 2005b; Lewis & Kattmann, 2004). Die unterschiedlichen Ebenen des Geno- und Phänotyps werden häufig gleichgesetzt, indem Genen die Eigenschaften des Merkmals, z. B. krank, zugesprochen werden. Des Weiteren wird häufig ein Zusammenhang von einem Gen zu einem Merkmal gezogen und die zwischengeschaltete Proteinebene völlig außer Acht gelassen, genauso wie Merkmale, die auf einer Vielzahl von Genen und deren Zusammenspiel beruhen. Entsprechend ist unser Phänotyp die Summe aller Merkmale, die genetische Ursachen haben können. Diese genetischen Grundlagen von Merkmalen reichen zur eindeutigen Personenidentifizierung allerdings nicht aus: Kodierende DNA-Sequenzen sind dafür bei Menschen nicht variabel genug, weil Gene in eindeutige Proteinsequenzen umgesetzt werden müssen, damit diese im Organismus funktionsfähig sind (► Abschn. 6.5). Damit dieselbe Aminosäure kodiert wird, können nur bestimmte Basentripletts an der entsprechenden Stelle der kodierenden Gensequenz stehen (vgl. Code-Sonne). Bei den nicht-kodierenden

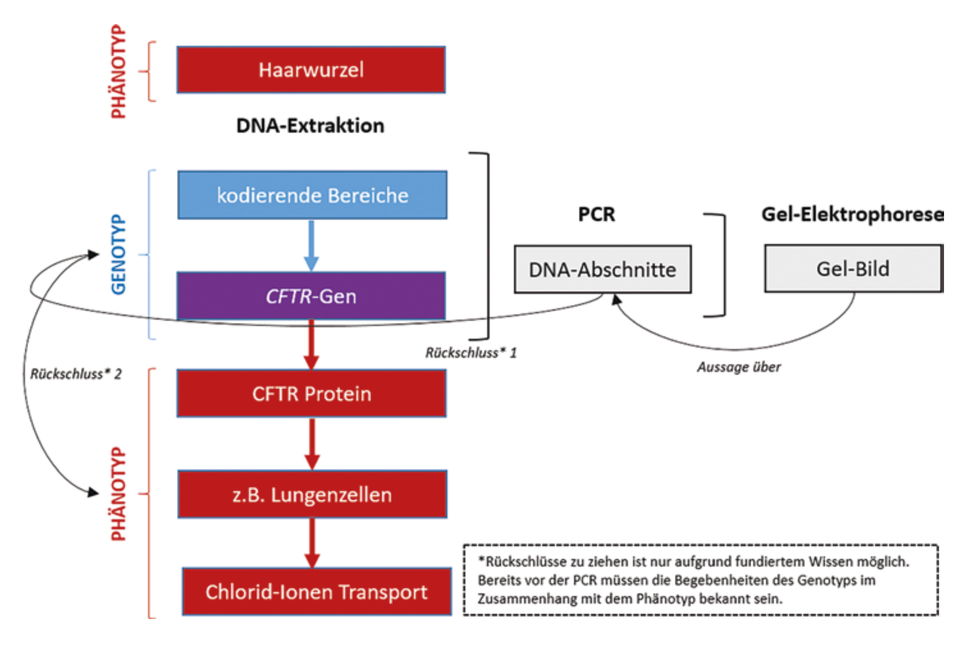


Abb. 6.8 Darstellung der Zusammenhänge zwischen genetischen und phänotypischen Grundlagen sowie deren Verknüpfung mit molekularbiologischen Methoden. Am Beispiel *Tatort DNA* wird der Ebenenwechsel (Genotyp – Analyse – Phänotyp) grafisch verdeutlicht

Bereichen ist diese Varianz deutlich höher, deshalb werden diese Bereiche zur Personenidentifikation DNA-Ebene gewählt. Sie bilden im Phänotyp kein sichtbares Merkmal aus.

Die Reflexion der Gesetzeslage und die Gegenüberstellung nicht-kodierender und kodierender *loci* der DNA kann damit sowohl dabei helfen, die verschiedenen Systemebenen von DNA, Genen und Proteinen in Beziehung zu setzen, als auch die Begriffe Gen und Merkmal zu unterscheiden (Kattmann, 2005b) (Abb. 6.8).

Im Kontext der Pränataldiagnostik kann das Präkonzept der *Konstanz des Vererbten* adressiert werden (Kattmann, 2005a) (► Kap. 4). Anhand dieses Beispiels können Stammbaumanalysen und Mutationsraten hinzugezogen werden, um die andauernde Veränderung der genomischen DNA zu verdeutlichen. Nach Schwanewedel et al. (2008) sind multifaktorielle Erkrankungen dazu besonders geeignet, weil diese über die Gene hinaus auch von Umweltfaktoren abhängen. Je nach Umgebung (Umwelt) können die gleichen Gene zu unterschiedlichen phänotypischen Ausprägungen führen oder eine Mutation der Gene einen oder keinen Effekt im Phänotyp zeigen.

Das Krankheitsbild Mukoviszidose kann auf verschiedenen Ebenen betrachtet werden: Auf genetischer Ebene kann zwischen nativem und mutiertem Gen unterschieden werden. Diese Mutationen haben unterschiedliche Auswirkungen auf die Proteinebene. Die Proteinebene wäre in diesem Kontext entsprechend die zweite Ebene. Die dritte Ebene spielt sich zellulär ab und beinhaltet die Funktionalität des Proteins im Milieu. Je nach Mutation kann das Protein seine Funktion zumindest teilweise erfüllen. In diesem Modul ist als Beispiel eine Mutation gewählt, bei der

das Protein seine Funktion überhaupt nicht erfüllen kann, weil es vorher abgebaut wird. Eine eingeschränkte oder fehlende Funktionalität hat auf der vierten Ebene, dem Gesamtsystem, Auswirkungen, die in diesem Fall symptomatischer Art sind. In diesem Beispiel wäre das die Mucusbildung. Reflektieren Sie entsprechend mit Ihren Schüler*innen, was die Methoden zeigen und welche Rückschlüsse mit welcher Begründung getroffen werden (◘ Abb. 6.8). Haarwurzel (Phänotyp) → DNA Extraktion (Methode) → PCR zeigt kurzes Fragment (Methode) → Deletionsmutation (Genotyp) → Abbau des Proteins (Proteinebene) → Mucusbildung (Zellebene) → Symptome von Mukoviszidose (Gesamtsystem, direkt beobachtbar).

Nach Kattmann kann ein derartiger Perspektivenwechsel zur Förderung des Verständnisses beitragen (Kattmann, 2015).

6.6.3 Umsetzung des Moduls *Tatort DNA* mit *Flipped Classroom*

Die Unterrichtsmethode *Flipped Classroom* kehrt die Unterrichtsphasen Erarbeitung und Übung (Hausaufgaben) um: Statt (fachliche) Inhalte unter Lenkung der Lehrkraft im Unterricht zu erarbeiten, werden Schüler*innen in einer Vorbereitungsphase mit geeigneten Materialien für selbstständige Lernphasen zu Hause versorgt, um im Präsenzunterricht den Schwerpunkt auf die (praktischen) Übungen, Anwendungen von neu erlerntem Wissen und Feedback zu den bisherigen Lerninhalten zu legen (z. B. Finkenberg & Trefzger, 2019). Aktuelle Meta-Studien zeigen für die Lernwirksamkeit der Methode gegenüber dem traditionellen Unterricht im MINT-Bereich mittlere Effekte, insbesondere, wenn Erklärvideos während der heimischen Vorbereitungsphase eingesetzt werden (Akçayır & Akçayır, 2018; Wagner et al., 2020).

Die hier vorgestellte praktische Unterrichtseinheit im Umfang einer Doppelstunde zu den molekularbiologischen Methoden PCR und Agarose-Gelelektrophorese ist in Übereinstimmung mit diesen Befunden daher gut geeignet, um sie mit einem *Flipped Classroom* durchzuführen und den Fokus der Erarbeitung und Übung im Präsenzunterricht vollständig auf die neue biotechnologische Methodik zu legen.

In der heimischen Vorbereitungsphase können mit Blick auf den Präsenzunterricht zentrale Konzepte der Genetik (DNA-Replikation, Mitose/Meiose, Chromosomenaberrationen und erbliche Krankheiten auf deren Basis) aus vorangegangenem Unterricht eigenständig wiederholt und die biotechnologischen Methoden anhand des digitalen Begleitmaterials theoretisch vorbereitet werden (▶ Abschn. 6.7). Diese Vorbereitung kann auch dazu beitragen, Verständnisschwierigkeiten bzgl. der Systemebenen und der zentralen Begriffe Phänotyp und Genotyp zu identifizieren (▶ Abschn. 4.2). Der hier genutzte Kontext eines Kriminalfalls kann anhand populärer filmischer Videosequenzen aus den Mediatheken des öffentlichen Rundfunks oder Fernsehens für die Schüler*innen interessant gemacht werden (analog für den Vaterschaftstest o. ä.). Idealerweise werden die Schüler*innen dadurch angeregt, in der Vorbereitung eigene Problemfragen zu der neuen Untersuchungsmethode auf der Basis ihres Vorwissens zu generieren und erste Ideen zu entwickeln, wie man sich die vorgestellte molekularbiologische Methodik bei der Untersuchung menschlicher DNA zunutze machen kann.

In der Präsenzphase liegt der Fokus auf der praktischen Erarbeitung der DNA-Analyse mithilfe der PCR und Agarose-Gelelektrophorese. Als naturwissenschaftliche Arbeitsweisen können hier das Beobachten und Vergleichen sowie das datengestützte Argumentieren explizit geübt werden (KMK, 2005, 2020). Während des praktischen Vorgehens sollten immer wieder explizit Rückbezüge zu den bereits wiederholten Inhalten und neu erarbeiteten theoretischen Grundlagen zur Methodik aus der Heimarbeitsphase integriert werden, um Parallelen zwischen dem biologischen Prozess der DNA-Replikation und seiner gezielten biotechnologischen Nutzung zu verdeutlichen. Wichtig ist, dass keine Zeit dafür verloren geht, ganze Themenblöcke, die durch Schüler*innen bereits zu Hause erarbeitet wurden, noch mal vorzustellen und zu wiederholen, entsprechend ist die sorgfältige häusliche Vorbereitung der Schüler*innen für den Erfolg der Methode *Flipped Classroom* von großer Bedeutung (Akçayır & Akçayır, 2018). Die Vorbereitungsmaterialien sollten daher so gestaltet sein, dass Schüler*innen motiviert sind, sich selbstständig damit auseinanderzusetzen. Hierzu gehören Lernmaterialien, die inhaltlichen Bezug auf interessante Kontexte aus dem Alltag und der Lebenswelt der Schüler*innen nehmen. Deren Schwierigkeit sollte an das Vorwissen der Lerngruppe angepasst sein, ggf. müssen Hilfestellungen angeboten werden. Auch sollten Sie verschiedene Darstellungsformen miteinander kombinieren, z. B. Erklärvideos, Texte mit animierten bildlichen Darstellungen komplexer Sachverhalte auf Zellebene, Simulationen zur Überprüfung von Ursache-Wirkungs-Beziehungen, Lernaufgaben mit Feedback etc. Ausgewählte Materialien finden Sie im Online-Material (► Abschn. 6.7).

6.7 Online-Material

Zur weiteren Vertiefung steht Ihnen zusätzliches Material online zur Verfügung (sn.pub/rEt5bJ). Unter anderem finden Sie dort die Flussdiagramme zu den Abläufen des praktischen Vorgehens in detaillierter Ausführung. Diese eigenen sich als Arbeitsanweisungen für Schüler*innen für die praktische Umsetzung und können direkt ausgedruckt werden. Entsprechend stehen Ihnen auch die Bild- und Videodateien zur Nutzung im Unterricht zur Verfügung.

Des Weiteren finden Sie dort verschiedene Aufgabenformate zu versuchsspezifischen Fragen. Die Musterlösungen zu Übungsaufgaben auf den dort erhältlichen Arbeitsblättern werden Ihnen online ebenfalls zur Verfügung gestellt.

► Auszug eines Arbeitsblatts für *Tatort DNA*

Die DNA der entführten Person konnte an Orten der Tatverdächtigen gefunden werden. Die entführte Person besitzt eine Mutation des *CFTR*-Gens.

Beschreiben Sie stichpunktartig die Versuchsdurchführung zur Identifizierung der möglichen Tatverdächtigen. ◄

Das hier vorgestellte Modul *Tatort DNA* mit seinen molekularbiologischen Methoden kann ohne weitere Sicherheitsregularien an Schulen durchgeführt werden. Trotzdem können Sie online die entsprechenden Sicherheitsdatenblätter abrufen (sn.pub/rEt5bJ).

Zusammenfassung

Das Modul *Tatort DNA* ermöglicht mit einfachen Methoden eine intensive Auseinandersetzung mit molekularbiologischen Kontexten. Die praktische Durchführung einer PCR mit vorgegebenen DNA-Proben kann auch mit jüngeren Schüler*innen bereits in der Mittelstufe umgesetzt werden. Zusammen mit der Agarose-Gelelektrophorese lernen Schüler*innen damit den vollständigen Ablauf der DNA-Analyse im Unterricht kennen. Diese praktische Einheit kann in verschiedene Kontexte gesetzt und damit an die individuellen Bedürfnisse Ihres Unterrichts angepasst werden. In diesem Kapitel werden Ihnen dazu zwei Beispiele vorgestellt.

Dieses Kapitel enthält detaillierte Anleitungen zur Durchführung mit wichtigen Hinweisen für Lehrkräfte, wie man typische methodische Fehler und Präkonzepte zur Vererbung adressieren kann.

Literatur

Akçayır, G., & Akçayır, M. (2018). The flipped classroom: A review of its advantages and challenges. *Computers & Education, 126*, 334–345.

Csanády, L., Seto-Young, D., Chan, K. W., Cenciarelli, C., Angel, B. B., Qin, J., … Gadsby, D. C. (2005). Preferential phosphorylation of R-domain Serine 768 dampens activation of CFTR channels by PKA. *The Journal of General Physiology, 125*(2), 171. https://doi.org/10.1085/jgp.200409076

Eichler, I. (2005). Zystische Fibrose (Mukoviszidose). In C. P. Speer & M. Gahr (Hrsg.), *Pädiatrie* (S. 619–627). Springer Berlin Heidelberg.

Ensinck, M., Keersmaecker, L., Heylen, L., Ramalho, A. S., Gijsbers, R., Farré, R., … Carlon, M. S. (2020). Phenotyping of rare CFTR mutations reveals distinct trafficking and functional defects. *Cells, 9*(3), 754.

Farrell, P. M., White, T. B., Howenstine, M. S., Munck, A., Parad, R. B., Rosenfeld, M., … McColley, S. A. (2017). Diagnosis of cystic fibrosis in screened populations. *The Journal of Pediatrics, 181S*, S33–S44.e32. https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.09.065

Finkenberg, F., & Trefzger, T. (2019). Umgedrehter Unterricht – Flipped Classroom als Methode im Physikunterricht. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 25*(1), 77–95.

Gadsby, D. C., Vergani, P., & Csanády, L. (2006). The ABC protein turned chloride channel whose failure causes cystic fibrosis. *Nature, 440*(7083), 477.

Hohoff, C., & Brinkmann, B. (1999). Human identity testing with PCR-based systems. *Molecular Biotechnology, 13*(2), 123–136. https://doi.org/10.1385/MB:13:2:123

ISB. (2015). Fachprofil Biologie LehrplanPLUS Bayern. Staatsinstitut für Schulqualität und Bildungsforschung München. https://www.lehrplanplus.bayern.de/fachprofil/gymnasium/biologie

Kattmann, U. (2005a). Charakterlose Gene. *Bioskop, 5*, 23–25.

Kattmann, U. (2005b). Charakterlose Gene. Konzepte und Denkfiguren zur Vererbung. *Bioskop*, 23–25.

Kattmann, U. (2015). Die Neigung, Fehler zu machen, und wie man mit ihnen lernen kann. Themenheft: Fehler-Neigung und Didaktische Rekonstruktion. (Seminar 04/2015).

KMK, K. (2005). *Bildungsstandards im Fach Biologie für den Mittleren Schulabschluss*. Wolters Kluwer.

KMK, K (Hrsg.). (2020). *Bildungsstandards im Fach Biologie für die Allgemeine Hochschulreife: (Beschluss der Kultusministerkonferenz vom 18.06.2020)*. Wolters Kluwer Deutschland GmbH.

Lewis, H. A., Zhao, X., Wang, C., Sauder, J. M., Rooney, I., Noland, B. W., ... & Emtage, S. (2005). Impact of the ΔF508 mutation in first nucleotide-binding domain of human cystic fibrosis transmembrane conductance regulator on domain folding and structure. *Journal of Biological Chemistry, 280*(2), 1346–1353.

Lewis, J., & Kattmann, U. (2004). Traits, genes, particles and information: Re-visiting students' understandings of genetics. *International Journal of Science Education, 26*(2), 195–206.

Liu, F., Zhang, Z., Csanády, L., Gadsby, D. C., & Chen, J. (2017). Molecular structure of the human CFTR ion channel. *Cell, 169*(1), 85–95.e88. https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.024

McNamara-Schroeder, K., Olonan, C., Chu, S., Montoya, M. C., Alviri, M., Ginty, S., & Love, J. J. (2006). DNA fingerprint analysis of three short tandem repeat (STR) loci for biochemistry and forensic science laboratory courses. *Biochemistry and Molecular Biology Education, 34*(5), 378–383. https://doi.org/10.1002/bmb.2006.494034052665

Pawlik, V. (2020). Umfrage zum Interesse an deutschen Krimis, Krimiserien im Fernsehen bis 2020. https://de.statista.com/statistik/daten/studie/1168054/umfrage/interesse-an-deutschen-krimis-und-krimiserien-im-fernsehen/. Zugegriffen am 20.01.2022.

Riordan, J. R., Rommens, J. M., Kerem, B., Alon, N., Rozmahel, R., Grzelczak, Z., … et al. (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. Science*, 245*(4922), 1066–1073. https://doi.org/10.1126/science.2475911

Schwanewedel, J., Hößle, C., & Kattmann, U. (2008). Vorstellung zur Rolle der Gene im Bezug auf die Gesundheit und Krankheit des Menschen. In U. Harms & A. Sandmann (Hrsg.), *Lehr-und Lernforschung in der Biologiedidaktik* (Bd. 3, S. 179–195). Studien.

Urbach, T., & Lesch, H. (2018). Krimis: Zahlen und Fakten über das beliebteste Genre. FINK.Hamburg. https://fink.hamburg/2018/11/krimis-in-zahlen/

Wagner, M., Gegenfurtner, A., & Urhahne, D. (2020). *Effectiveness of the flipped classroom on student achievement in secondary education: A meta-analysis*. *Zeitschrift für Pädagogische Psychologie, 35*(1), 11–31.

Weichert, J., & Eckmann-Scholz, C. (2012). Pränataldiagnostik. *Der Gynäkologe, 45*(1), 35–40. https://doi.org/10.1007/s00129-011-2861-0

Zhang, Z., Liu, F., & Chen, J. (2018). Molecular structure of the ATP-bound, phosphorylated human CFTR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 115*(50), 12757. https://doi.org/10.1073/pnas.1815287115



Eat, Sleep, Repeat – wie Evolution unsere innere Uhr beeinflusst

Inhaltsverzeichnis

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_7

7.1 Impuls

Diesen Ausdruck gibt es mit vielen Erweiterungen: Work, Read, Love, aber die zugrundeliegende Struktur bleibt dieselbe. Der circadiane Rhythmus steuert uns alle, ob Fitnessliebhaber oder Couchpotatoe, ob **Cyanobakterium** oder Säugetier (Bhadra et al., 2017).

Unsere moderne Lebensweise nimmt massiven Einfluss auf diese globale Steuerung unseres Organismus (Sato et al., 2017). Wir sind umgeben von Bildschirmen, deren (blaues) Licht indirekt die Expression verschiedener Gene beeinflusst (Bhadra et al., 2017; Koronowski & Sassone-Corsi, 2021).

Dabei war die Anpassung an den Tagesrhythmus (Licht) und im Weiteren die Entwicklung molekularer Mechanismen, um diese Anpassung zu gewährleisten, fundamental in allen Lebewesen (Bhadra et al., 2017). Die Aufklärung dieser Mechanismen ist immer noch Bestandteil der aktuellen Forschung (Northeast et al., 2020). Seien Sie mit Ihren Schüler*innen dabei, wenn es darum geht, den molekularen Mechanismen auf die Spur zu kommen (◘ Abb. 7.1). Inwieweit weicht Ihr Genotyp von ihrem Phänotyp ab? Unter ► Abschn. 7.6.3 wird Ihnen noch ein alternatives Unterrichtskonzept mit Bezug zu einer digitalen Umsetzung vorgestellt.

Glückstädter Anzeiger

Stundenplan soll an genetische Uhr angepasst werden
Simon P. reicht eine Petition beim Bürgermeister ein

Glückstadt, 15.04.2018
Simon P. ist Schüler des städtischen Gymnasiums Glückstadt und setzt sich für den Ausgleich genetischer Ungerechtigkeiten ein. Gestern reichte er beim Bürgermeister eine Petition mit 250 Unterschriften ein, die fordert den Unterrichtsbeginn für genetische Langschläfer nach hinten zu verschieben.

Das sagt Simon P.:
„Sobald ich von der inneren Uhr erfahren habe und weiß, dass Morgenmuffelei genetisch bedingt ist, musste ich einfach handeln.

Es wurden bereits zahlreiche Gene identifiziert, dazu gehört auch das PERIOD3 Gen (*Per3*). Momentan wird der Einfluss dieses Gens auf die Präferenz des Tag-Nacht-Rhythmus diskutiert. Das *Per3* Gen kommt in zwei Allel-Varianten vor, die sich in ihrer Anzahl VNTRs (various number of tandem repeats) unterscheiden. Träger des Allels mit 4 *VNTRs* wären entsprechend der aktuellen Annahme Frühaufsteher, wohingegen Träger des Allels mit 5 *VNTRs* Langschläfer wären.

◘ **Abb. 7.1 Ausschnitt eines thematisch passenden Zeitungsartikels.** Dieser Zeitungsartikel ist eines von mehreren Elementen, die Ihnen als didaktisches Begleitmaterial online zu den Versuchen zur Verfügung gestellt werden

7.2 Durchführung

Es empfiehlt sich, den Versuch in zwei getrennten Stunden durchzuführen. Da bereits die PCR etwa 90 Minuten in Anspruch nimmt, ist es nicht möglich, diesen Versuch in einer Doppelstunde durchzuführen. Im Idealfall kann die PCR durch die Schüler*innen gestartet werden und in der Sammlung oder anderen Vorbereitungsräumen der Biologie bzw. über die Mittagspause ablaufen. Die Durchführung kann nach der PCR unterbrochen werden, weil die PCR-Proben im Kühlschrank lagerbar sind. Sofern die Durchführung als Blockveranstaltung stattfindet, sollten mindestens drei Stunden dafür veranschlagt werden.

In ◘ Abb. 7.2 ist die Versuchsübersicht unter Angabe der relevanten Methoden gezeigt. Damit Sie als Lehrkraft einen ersten Eindruck darüber bekommen, wie viel Zeit die praktische Durchführung der einzelnen Teilschritte in Anspruch nimmt, haben wir entsprechende Zeitangaben in die Abbildung integriert. Bitte beachten Sie, dass unsere Einschätzungen je nach Jahrgangsstufe und praktischem Erfahrungsbereich Ihrer Schüler*innen abweichen können.

Die verschiedene Anzahl an ***variable number of tandem repeats*** **(VNTRs)** im *PER3*-Gen wird mit einem unterschiedlichen Schlaf-Wach-Rhythmus assoziiert (► Abschn. 7.5.5). Die Analyse des eigenen DNA-Materials soll aufzeigen, ob Sie genotypisch dem Lerchen- oder dem Eulen-Allel zuzuordnen sind ◘ Abb. 7.2. Dabei wird das Lerchen-Allel dem längeren DNA-Fragment mit 284 bp und das Eulen-Allel dem kürzeren DNA-Fragment mit 230 bp zugeordnet.

Durch Analyse des Agarose-Gels können Sie ihren Genotyp bestimmen und dadurch Ihren Phänotyp ableiten. Allerdings kann sich der phänotypische **Chronotyp** von dem genotypischen unterscheiden. Die unterschiedlichen Einflüsse auf den phänotypischen Chronotyp werden in ► Abschn. 7.5.2 genauer besprochen. Im Folgenden werden die Durchführungsschritte der einzelnen Methoden im Detail beschrieben.

Tipp

In diesem Versuch kann jede*r Schüler*in seine eigene DNA-Probe analysieren. Es empfiehlt sich, ein einheitliches Beschriftungssystem festzulegen, z. B. die Initialen. Das erleichtert den Schüler*innen, ihre eigenen Ansätze aus den Geräten zu holen.

Wichtig

Achten Sie bei der Durchführung auf die allgemeingültigen Prinzipien des sicheren Arbeitens im Labor, um Schüler*innen frühzeitig für diese zu sensibilisieren. Es empfiehlt sich, während des gesamten Versuchs Handschuhe zu tragen.

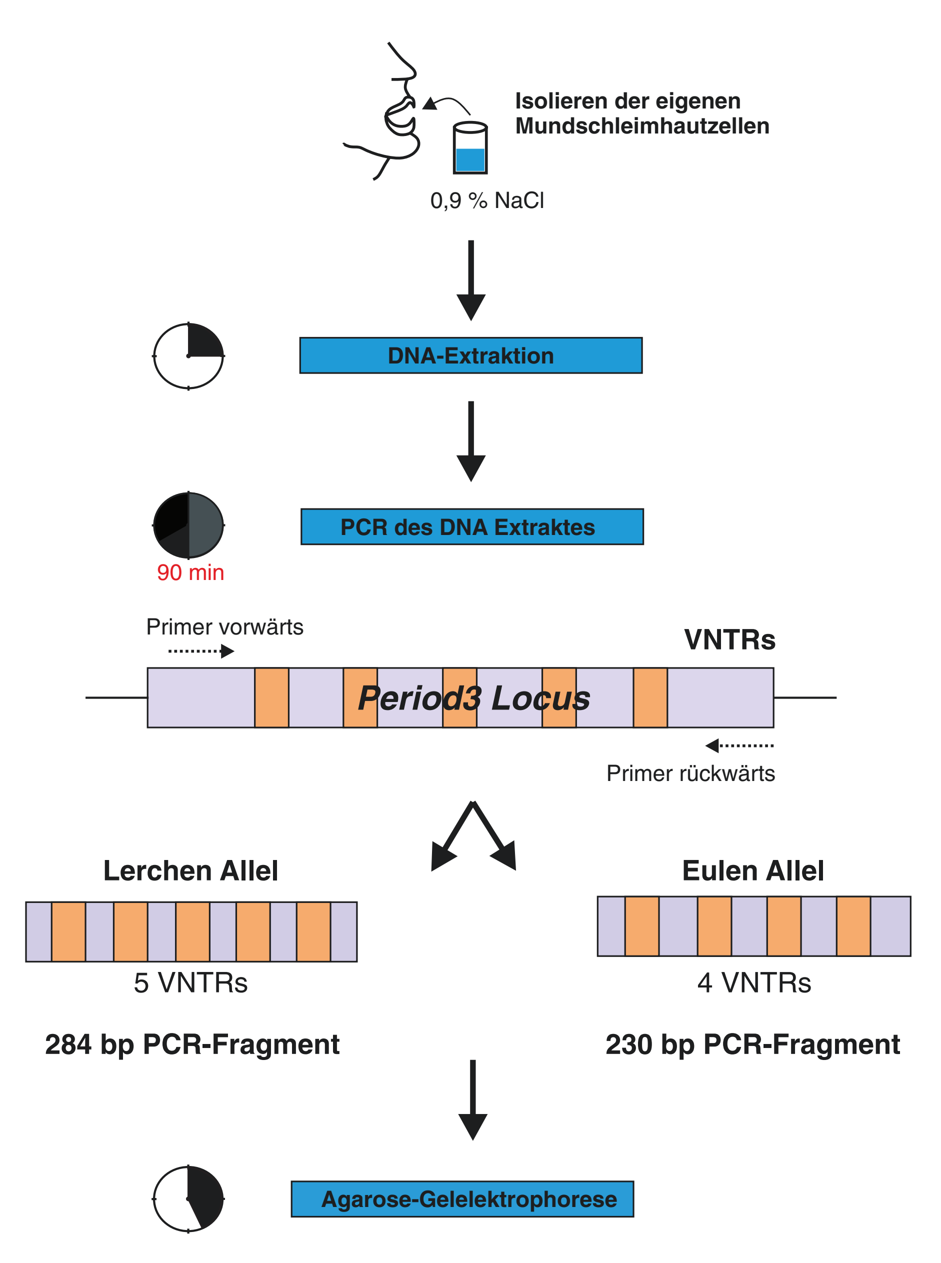


Abb. 7.2 **Versuchsübersicht zur Identifizierung des Längenpolymorphismus im *PER3*-Gen.** In einem ersten Schritt wird genomische DNA aus Mundschleimhautzellen gewonnen. Das DNA-Extrakt dient in der folgenden PCR als Template zur Amplifikation des *PER3*-Gens. Die Primer flankieren dabei die Start- und Endposition des *PER3*-Gens. Die Identifizierung des Lerchen- oder Eulen-**Allel**s erfolgt abschließend mittels Agarose-Gelelektrophorese. Die wesentlichen Arbeitsschritte sind in blau hervorgehobenen Blöcken dargestellt. Die VNTRs sind durch orangene Bereiche markiert

7.2.1 DNA-Extraktion

Zunächst extrahieren Sie ihre eigene genomische DNA aus Ihren Mundschleimhautzellen (■ Abb. 7.3).

Wichtig
Vermeiden Sie 20 min vor der DNA-Extraktion das Kauen von Kaugummi oder ähnlichen Menthol/Mint-Süßigkeiten, da das Ergebnis dadurch negativ beeinflusst werden kann. Achten Sie darauf, dass Ihr Mundinnenraum sauber ist und keinerlei Essensreste vorhanden sind.

Für die Extraktion stehen Ihnen zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Einerseits die Extraktion über eine Mundspülung mit einer 0,9 %-igen Natriumchlorid-Lösung (NaCl) und zweitens die mechanische Extraktion mit einem Zahnstocher. Hier wird der Vorgang mit der Mundspülung vorgestellt, die Anleitung zur mechanischen Extraktion finden Sie in ► Abschn. 8.2.1.

Pro Person wird Folgendes vorbereitet:

Eppendorf-Reaktionsgefäß:	1,5 mL
Zwei PCR-Gefäße:	0,2 mL
Zwei Becher	

Geben Sie 10 mL 0,9 %-ige NaCl-Lösung in den Becher und spülen Sie damit für 30 sec den Mund (Lench, 1988).

Wichtig
Nicht schlucken!

Spucken Sie die Lösung in einen frischen Becher aus und überführen Sie davon 1 mL in das 1,5 mL Reaktionsgefäß. Zentrifugieren Sie für 1 min.

Wichtig
Achten Sie beim Zentrifugieren darauf, dass die Proben ausbalanciert sind (Abb. ► 5.2).

Der Überstand wird verworfen.

Wichtig
Pipettieren Sie den Überstand (klare Lösung) vorsichtig ab und achten Sie darauf, dass Zellpellet mit Ihrer Pipettenspitze nicht zu berühren und nichts von dem Zellpellet abzusaugen.

Wichtig
Das Pellet ist als weißer Feststoff am Boden des Reaktionsgefäßes erkennbar. Es enthält die Mundschleimhautzellen und damit die genomische DNA.

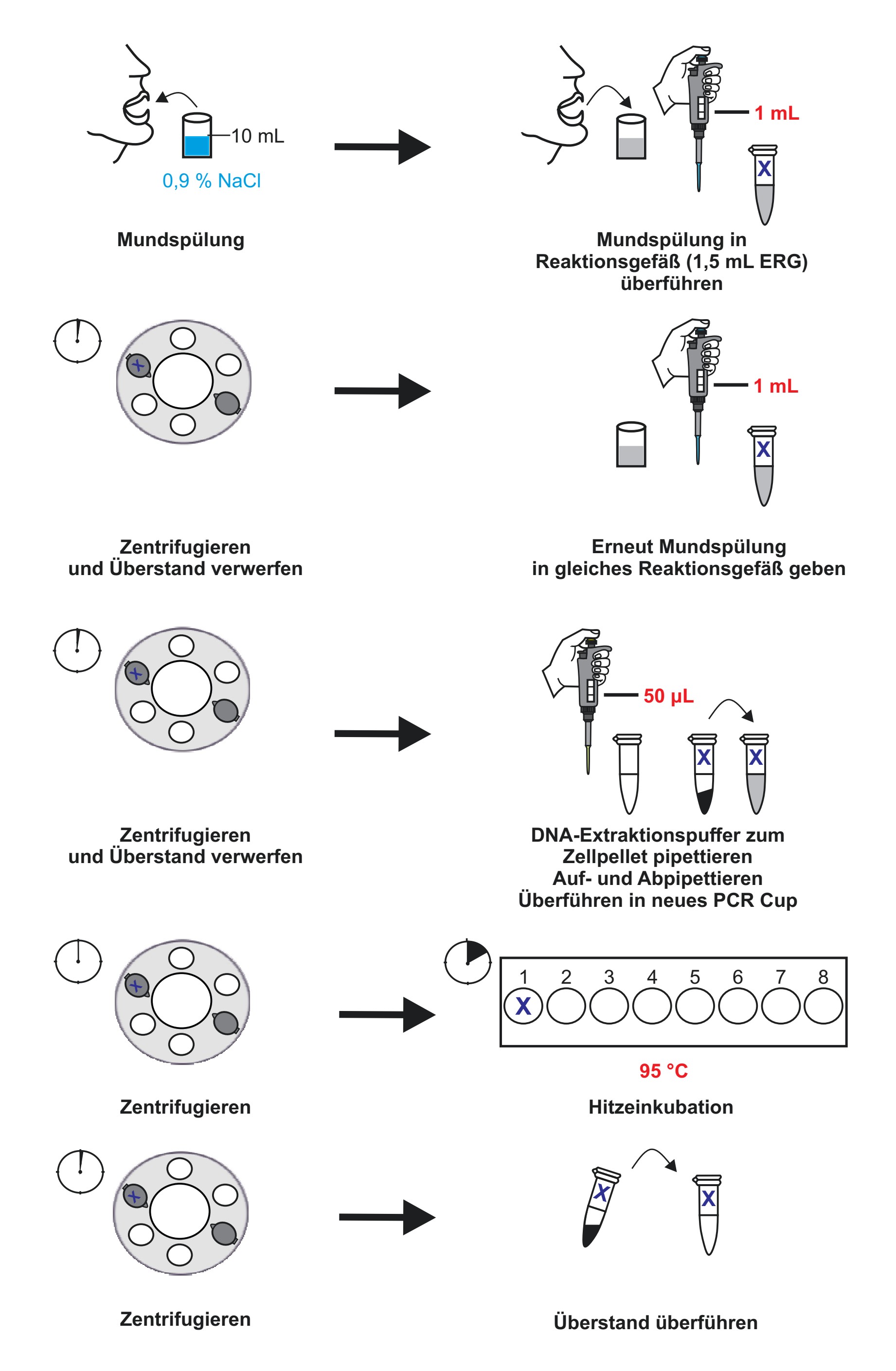


Abb. 7.3 DNA-Extraktion aus Mundschleimhautzellen. Durch Verwendung des DNA-Extraktionspuffers ist eine Isolation der eigenen genomischen DNA aus Mundschleimhautzellen möglich. Nach Aufschluss der Mundschleimhautzellen und Zentrifugation kann im letzten Schritt der Überstand, welcher die isolierte DNA beinhaltet, vom Pellet getrennt werden

Geben Sie nochmals 1 mL der Mundspülung mit Mundschleimhaut in das gleiche Reaktionsgefäß und zentrifugieren Sie erneut für 1 min. Pipettieren Sie den Überstand vorsichtig ab.

Tipp

Sofern kein Pellet zu sehen ist, wiederholen Sie den Schritt der Zentrifugation oder den des Spülens.

Folgendes Reagenz wird in das Reaktionsgefäß mit dem Zellpellet ohne Überstand pipettiert:

- DNA-Extraktionspuffer: 50 µL

Resuspendieren Sie das Pellet durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren und überführen Sie die Suspension in das vorbereitete PCR-Gefäß.

Wichtig
Achten Sie darauf, dass das Zellpellet vollständig suspendiert ist.

Achten Sie darauf, dass PCR-Gefäß richtig zu verschließen, da es sonst im Thermozykler zu einer Verdunstung der Reaktionsflüssigkeit kommen kann. Die vorbereiteten Proben werden dann kurz zentrifugiert, ca. eine Sekunden.

Wichtig
Achten Sie darauf, dass die Zentrifugen von den Schüler*innen korrekt beladen werden. Nur dann kann eine sichere Benutzung gewährleistet werden. (► Abschn. 5.5)

Abschließend werden die Proben in den Thermozykler gestellt und der Deckel verschlossen. Überprüfen Sie, dass das Gerät ausgeschaltet ist.

Wichtig
Zum Arretieren des Deckels ist ein zusätzlicher Drehknauf vorhanden. Dieser ist sehr empfindlich. Drehen Sie nicht weiter, sobald Sie einen kleinen Widerstand spüren, sonst bricht der Drehknauf ab.

Die Proben werden dann für 10 min bei 95 °C im PCR-Gerät inkubiert. Führen Sie den Hitze-Inkubationsschritt mit dem Programm *heat block* durch. Nach Auswahl des Programms klicken Sie auf *upload*. Der Name Ihres Thermozyklers erscheint in einem Pop-Up Fenster.

Da Ihr Gerät noch ausgeschaltet ist, wird oben links in Ihrem Versuchsfenster *no power* angezeigt. Schalten Sie Ihr Gerät jetzt ein. Die Inkubation kann am Monitor jetzt in Echtzeit verfolgt werden.

Entnehmen Sie die PCR-Gefäße und kühlen Sie diese bei Raumtemperatur kurz ab, ca. 1 min.

Tipp

Um die Wartezeit optimal auszunutzen, können Sie bereits während des Inkubationsschritts mit der Vorbereitung der PCR-Reaktionen beginnen.

Zentrifugieren Sie dann Ihr PCR-Gefäß mit dem enthaltenen DNA-Extrakt für 90 sec. Überführen Sie den Überstand in ein frisches PCR-Gefäß.

Wichtig
Die genomische DNA liegt nach diesem Schritt im Überstand vor. Das Pellet besteht nur aus den Zelltrümmern. Dieses Mal muss der Überstand weiterverwendet werden und das Zellpellet wird verworfen!

Wichtig
Vermeiden Sie das Berühren des Zellpellets mit der Pipettenspitze!

Wichtig
Eine Lagerung des DNA-Extrakts ist nicht möglich, daher muss die Probe sofort weiterverwendet werden.

Wichtig
Die sorgfältige Durchführung des Extraktionsschritts beeinflusst wesentlich die anschließenden Methoden und den Gesamterfolg des Versuchs. Lassen Sie sich daher für diesen Schritt am meisten Zeit, um ein möglichst aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten.

7.2.2 PCR

Mit dem genomischen DNA-Extrakt wird im Anschluss eine PCR durchgeführt (◘ Abb. 7.4).
Jede*r Schüler*in bereitet ein weiteres PCR-Gefäß vor.
Folgende Reagenzien werden in das frische PCR-Gefäß pipettiert:

Sleep Lab Primer Mix ™	20 µL
EZ PCR Master Mix ™	5 µL
DNA-Extrakt	3 µL
Gesamt	28 µL

Wichtig
Sorgfältiges Pipettieren beeinflusst den Erfolg des Versuchsergebnisses.

Wichtig
Sobald ein neues Reagenz pipettiert wird, muss die Pipettenspitze gewechselt werden.

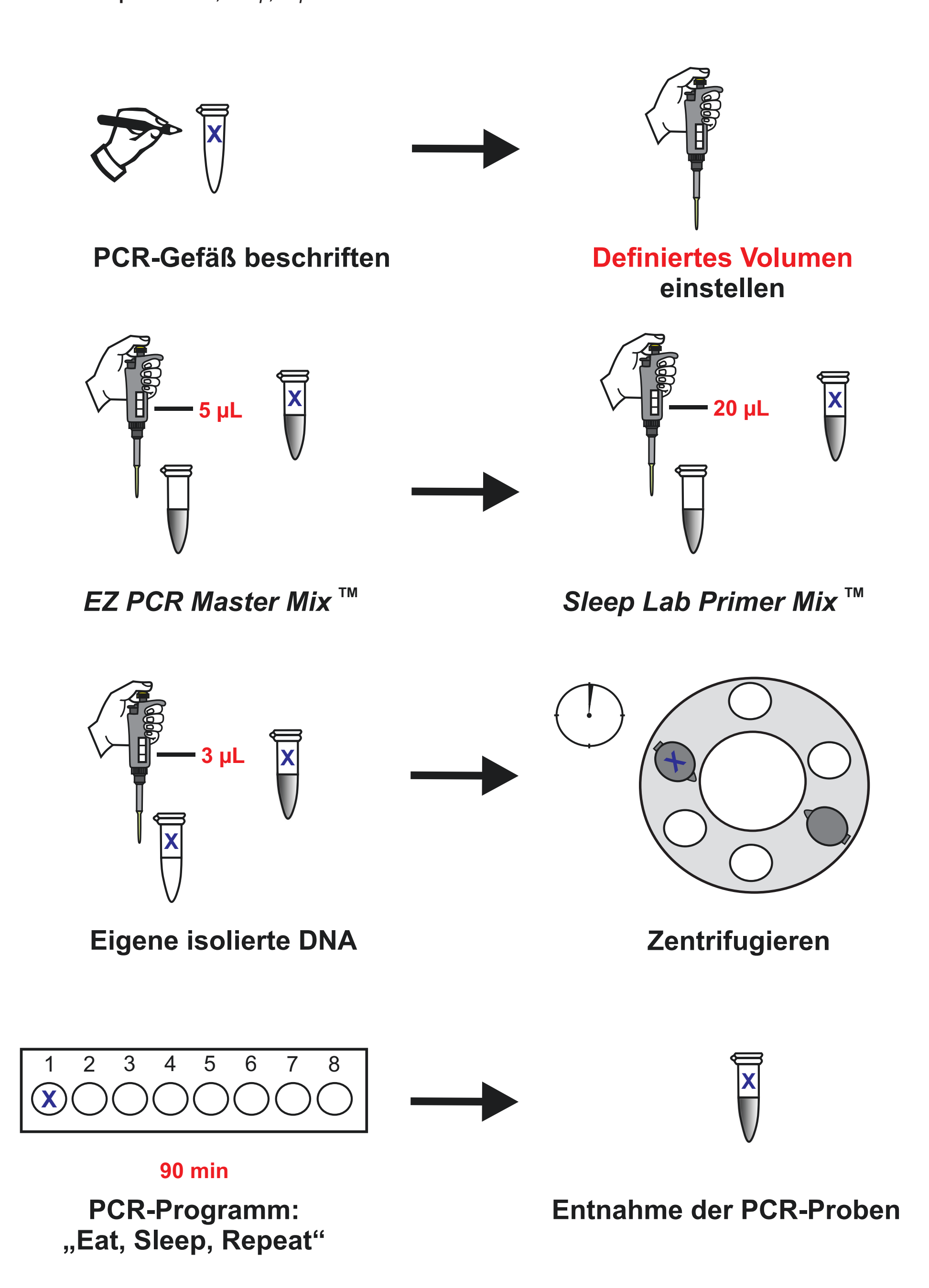


Abb. 7.4 Durchführung der PCR mit eigenem DNA-Extrakt. Pro Ansatz werden 20 µL *Sleep Lab Primer Mix*™ und 5 µL *EZ PCR Master Mix*™ in ein PCR-Gefäß pipettiert. Zuletzt werden 3 µL des isolierten eigenen DNA-Extrakts zugegeben. Nach kurzer Zentrifugation der Proben wird die PCR durch Auswahl des *Eat, Sleep, Repeat*-Protokolls gestartet. Die PCR-Produkte können weiterverwendet oder im Kühlschrank gelagert werden

Tipp

Werden mehrere Reagenzien in einen Ansatz pipettiert, empfiehlt sich mit dem größten Volumen zu beginnen. Pipettieren Sie DNA-Proben immer zum Schluss.

Das Gesamtvolumen jedes Ansatzes beträgt 28 µL. Mischen Sie die Reagenzien durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren. Achten Sie darauf, die PCR-Gefäße richtig zu verschließen, da es sonst im Thermozykler zu einer Verdunstung der Reaktionsflüssigkeit kommen kann. Die vorbereiteten PCR-Proben werden dann kurz zentrifugiert, ca. drei Sekunden.

Wichtig

Achten Sie darauf, dass die Zentrifugen von den Schülern*innen korrekt beladen werden. Nur dann kann eine sichere Benutzung gewährleistet werden. (► Abb. 5.2)

Abschließend werden die PCR-Proben in den Thermozykler gestellt und der Deckel verschlossen. Überprüfen Sie, dass das Gerät ausgeschaltet ist.

Wichtig

Zum Arretieren des Deckels ist ein zusätzlicher Drehknauf vorhanden. Dieser ist sehr empfindlich. Drehen Sie nicht weiter, sobald Sie einen kleinen Widerstand spüren, sonst bricht der Drehknauf ab.

Für die PCR wird das bereits gespeicherte *Eat, Sleep, Repeat*-Protokoll verwendet (► Abschn. 5.3). Nach Auswahl des Programms klicken Sie auf *upload*. Der Name Ihres PCR-Geräts erscheint in einem Pop-Up Fenster.

Die Parameter des PCR-Programms sind in ◘ Tab. 7.1 gezeigt, diese können Sie vorab speichern (► Abschn. 5.3).

Da Ihr Gerät ausgeschaltet ist, wird oben links in Ihrem Versuchsfenster *no power* angezeigt. Schalten Sie Ihr Gerät jetzt ein. Die Thermozykler merken sich das zuletzt genutzte Programm. Durch das Anschalten des Geräts nach *upload* des Programms stellen Sie sicher, dass der Thermozykler kein anderes Programm startet.

Die PCR-Reaktion kann am Monitor in Echtzeit verfolgt werden.

Tipp

Während die PCR-Reaktion läuft, können die Agarose-Gele vorbereitet werden.

Die Dauer der 30 Zyklen beträgt 30 min (60 sec pro Zyklus, ◘ Tab. 7.1). Unter Berücksichtigung der *initial denaturation*, den Temperaturänderungen zwischen den Schritten sowie der *final extension* ist die PCR nach etwa 90 min abgeschlossen. Dies wird durch einen Klingelton angezeigt, auf dem Display erscheint *status completed*. Die PCR-Gefäße können jetzt aus dem Gerät entfernt werden.

Tab. 7.1 Einstellungen des PCR-Programms für *Eat, Sleep, Repeat*. Die mit * markierten Schritte geben einen PCR-Zyklus an. Die Gesamtzahl der Zyklen ist unter *number of cycles* angegeben

PCR-Programm	Temperatur [°C]	Zeit [s]
initial denaturation	94	30
denaturation *	94	20
annealing *	64	20
extension *	72	20
final extension	72	30
heated lid	ON	
number of cycles	30	

Vorsicht:
Der Metalldeckel kann noch heiß sein.

Die Proben können nun direkt weiterverwendet oder im Kühlschrank gelagert werden.

7.2.3 Agarose-Gel-Herstellung

Als nächstes erfolgt die Herstellung eines 2,0 %-igen Agarose-Gels (Abb. 7.5).

Es bietet sich an, die Agarose-Gele während der Durchführung der PCR zu gießen, um die Zeit optimal auszunutzen (s.o.). In diesem Versuch kann auch die mögliche Lagerung der Gele relevant werden, da sich die gesuchten Banden nur um etwa 50 bp unterscheiden, dauert die Gelelektrophorese länger als in den vorherigen Versuchen.

Tipp

Agarose-Gele können bis zu einem Tag im Kühlschrank gelagert werden. Wickeln Sie diese dafür erst in Frischhaltefolie und dann in Alufolie ein. Damit schützen Sie die Gele vor dem Austrocknen und den enthaltenen Farbstoff vor Schädigung durch Lichtstrahlung.

Tipp

In diesem Versuch können acht Schüler*innen ihre Proben auf ein Gel aufgetragen. Zusätzlich wird pro Agarose-Gel ein DNA-Größenstandard aufgetragen.

Bereiten Sie eine saubere und trockene Gel-Gießapparatur vor und legen Sie einen Probenkamm bereit (► Abschn. 5.4).

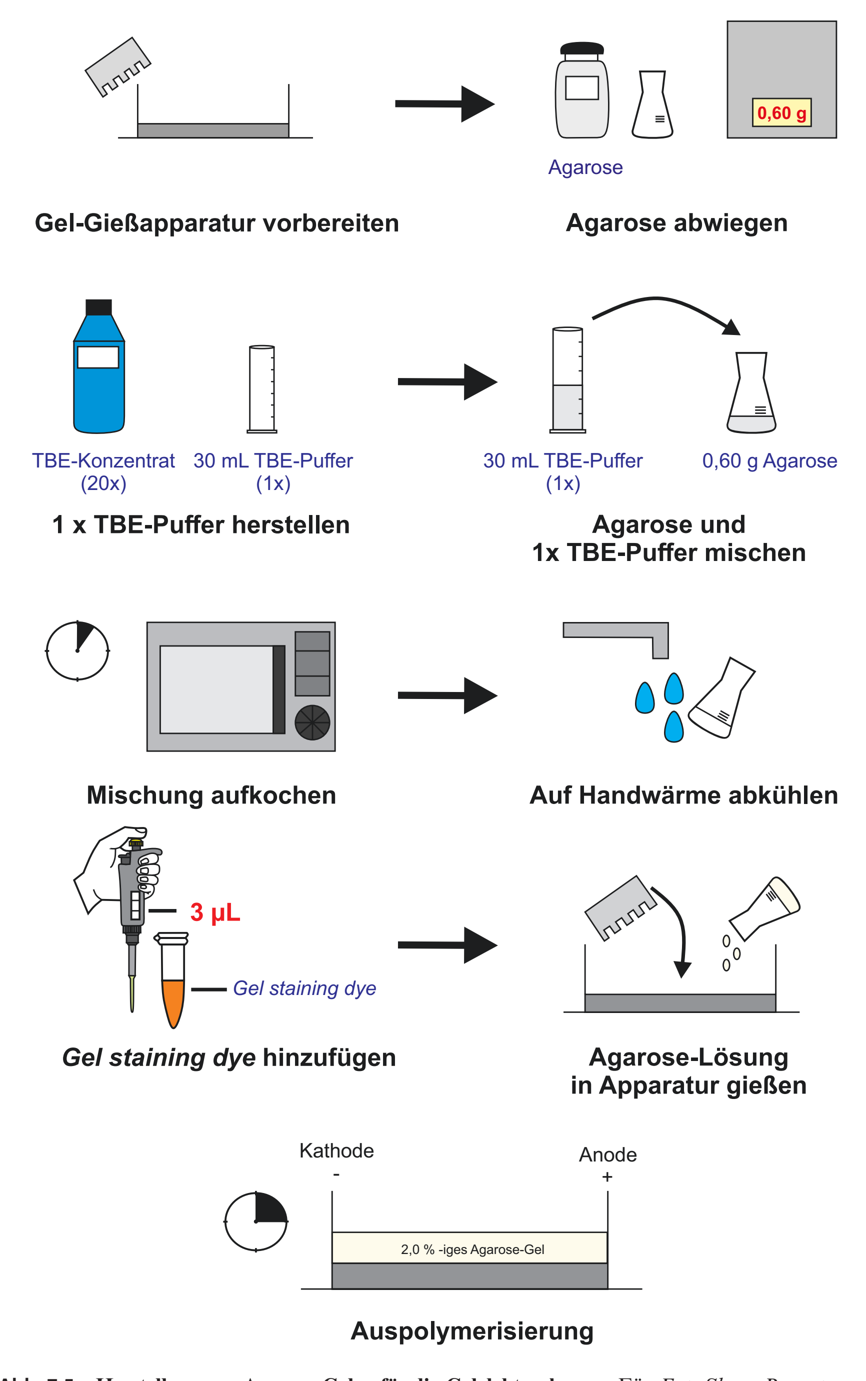


Abb. 7.5 Herstellung von Agarose-Gelen für die Gelelektrophorese. Für *Eat, Sleep, Repeat* werden 2,0 %-ige Agarose-Gele benötigt. Dafür werden 30,00 mL 1x TBE-Puffer mit 0,6 g Agarose versetzt. Durch kurzes Aufkochen entsteht eine homogene, klare Lösung, welche nach Abkühlen auf Handtemperatur mit 3 µL *gel staining dye* versetzt wird. Die Agarose-Lösung wird in die Gel-Gießapparatur überführt und der Probenkamm in die Halterung gesteckt. Die Auspolymerisierung dauert etwa 15 Minuten

Agarose	0,6 g
1x TBE-Puffer	30 mL
gel staining dye	3,0 µL

Wichtig
gel staining dye erst nach dem Abkühlen hinzugeben.
Pro 10,0 mL Agarose-Lösung werden 1,00 µL *gel staining dye* benötigt.

Die Mischung wird zum Lösen der Agarose kurz in der Mikrowelle aufgekocht. Eine klare Lösung zeigt ein vollständiges Lösen der Agarose an. Um einen Siedeverzug zu vermeiden, kann der Vorgang in der Mikrowelle unterbrochen und der Erlenmeyerkolben mehrmals geschwenkt werden. Kühlen Sie die homogene Mischung unter fließendem Wasser bis zur Handwärme ab. Die Lösung wird dann in die Gel-Gießapparatur überführt. Stecken Sie den Probenkamm in die vorgesehene Halterung.

Tipp

Kleine Luftblasen im Gel können mit einer Pipettenspitze entfernt werden.

Nach 15–20 min ist das Gel verfestigt. Entfernen Sie den Probenkamm vorsichtig. Die Agarose-Gele können direkt für die Elektrophorese verwendet werden.

Tipp

Agarose-Gele können bis zu einem Tag im Kühlschrank gelagert werden. Wickeln Sie diese dafür erst in Frischhaltefolie und dann in Alufolie ein. Damit schützen Sie die Gele vor dem Austrocknen und den enthaltenen Farbstoff vor Schädigung durch Lichtstrahlung.

7.2.4 Agarose-Gelelektrophorese

Der letzte Schritt des Versuchs ist die Analyse der PCR-Proben mittels Agarose-Gelelektrophorese (◘ Abb. 7.6).

Die Agarose-Gele können im Schlitten in die Elektrophoresekammern überführt werden.

1x TBE-Puffer zum Überschichten	35 mL
Pro DNA-Probe	12 µL
DNA-Größenstandard	12 µL

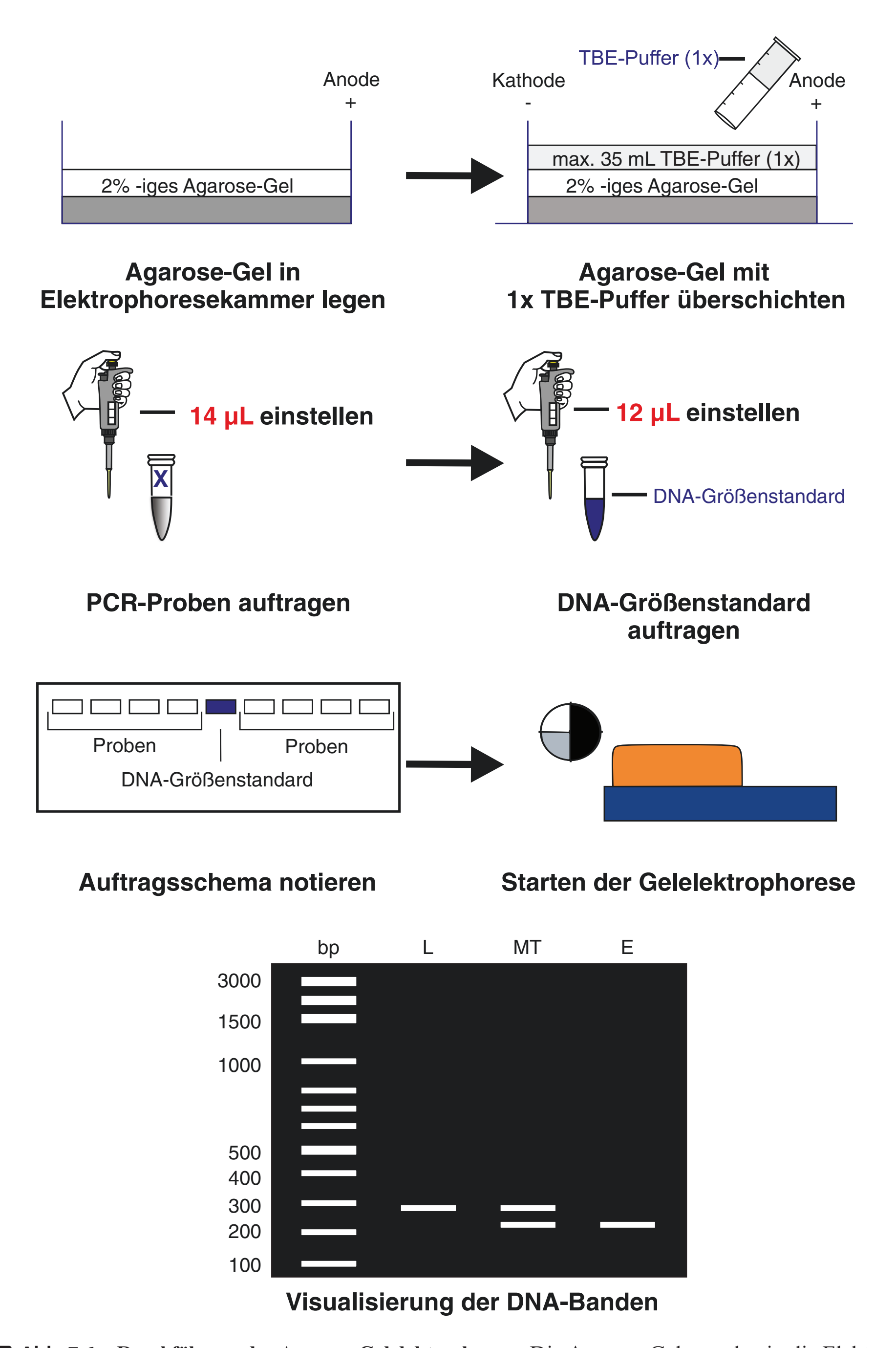


Abb. 7.6 Durchführung der Agarose-Gelelektrophorese. Die Agarose-Gele werden in die Elektrophoresekammern überführt und dort mit 1x TBE-Puffer überschichtet, bevor die PCR-Proben aufgetragen werden. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe eines DNA-Größenstandards. Bp = DNA-Größenstandard 100 bp, L = Lerche ($Per^{5/5}$), MT = Mischtyp ($Per^{4/5}$), E = Eule ($Per^{4/4}$)

Wichtig
Vor dem Auftragen der Proben werden die Agarose-Gele jeweils mit 30 mL 1x TBE-Puffer überschichtet. Nutzen Sie nie mehr als 35 mL 1x TBE-Puffer zum Überschichten der Gele in der Elektrophoresekammer, da der Puffer sonst überläuft.

Wichtig
Pro Agarose-Gel können acht PCR-Proben und ein DNA-Größenstandard aufgetragen werden. Es empfiehlt sich, den DNA-Größenstandard mittig auf das Agarose-Gel aufzutragen.

Wichtig
Berühren Sie mit Ihrer Pipettenspitze dabei nicht den Boden der Probenkammer, da diese sonst beschädigt wird (► Abschn. 5.4.2.).

Wichtig
Notieren Sie sich die Reihenfolge, in der Sie die Proben aufgetragen haben.

Verschließen Sie die Elektrophoresekammer. Drücken Sie den *run*-Knopf und führen Sie die Elektrophorese für 30–45 min durch. Achten Sie darauf, dass die Banden des DNA-Größenstandards im Bereich 100–400 bp gut aufgelöst, d. h. gut voneinander getrennt sind. Nach ca. 30–45 min ist die Gelelektrophorese abgeschlossen. Das Gerät kann jetzt ausgeschaltet werden.

Tipp

Die Auftrennung der DNA Proben kann durch Betätigung des *illuminator*-Knopfs auf dem Gerät in Ist-Zeit verfolgt werden. Wird das Licht zu häufig während der Auftrennung angeschaltet oder dauerhaft angelassen, kann das zum Ausbleichen der Proben führen.

Drücken Sie nach Beendigung der Elektrophorese den *illuminator*-Knopf und dokumentieren Sie Ihr Ergebnis. Die Agarose-Gele können direkt mit dem Smartphone fotografiert werden.

7.3 Ergebnisinterpretation

In diesem letzten Schritt können die DNA-Banden im Agarose-Gel analysiert werden. Je kleiner die DNA-Fragmente sind, desto schneller wandern sie im Agarose-Gel nach unten. Große DNA-Fragmente werden durch die Agarose-Matrix stärker zurückgehalten und sind nach der Gelelektrophorese demnach weiter oben im Agarose-Gel zu finden (Abschn. ► 3.2). Durch den Vergleich der DNA-Fragmente mit den jeweiligen definierten Banden des DNA-Größenstandards ist eine

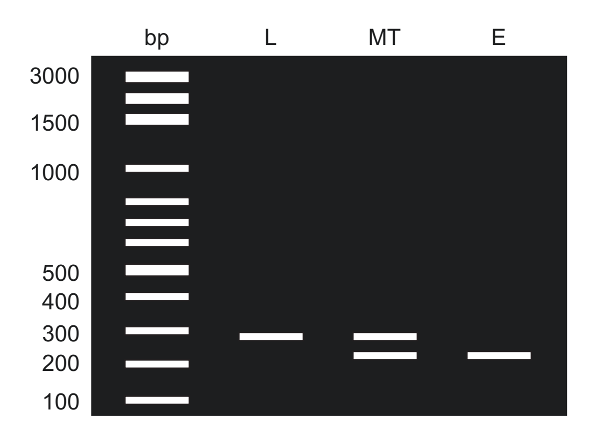
Abschätzung der Basenpaarlänge dieser Fragmente möglich. Die unterschiedliche Laufweite der PCR-Proben ermöglicht eine Interpretation des Ergebnisses.

Das Lerchen-Allel liefert aufgrund der 5 VNTRs ein längeres DNA-Fragment bei ca. 280 bp, während das Eulen-Allel aufgrund der 4 VNTRs ein kürzeres DNA-Fragment bei ca. 230 bp liefert. Mischtypen haben beide Allele (◘ Abb. 7.7). An diesem Beispiel können die Vererbungsmechanismen und die Allelzusammensetzung des genetischen Materials wiederholt oder neu erarbeitet werden (▶ Abschn. 7.6.1 streichen). Berücksichtigen Sie in diesem Versuch die strikte Trennung von Genotyp und Phänotyp. Das *PER3*-Gen ist lediglich eine Komponente der molekularen Uhr und der Phänotyp wird maßgeblich von Umwelteinflüssen sowie dem Lebensstil mitbestimmt (▶ Abschn. 7.5).

◘ Tab. 7.2 zeigt alle Varianten, die aus den Versuchsergebnissen für den Genotyp und Phänotyp abgeleitet werden können.

Wie gut ihr ermittelter Genotyp mit ihrer phänotypischen Ausprägung übereinstimmt, können Sie zusätzlich mit einem von Horne & Östberg (1976) entwickelten Fragebogen zur Analyse der Morgen-Abend-Präferenz untersuchen. Dieser Fragebogen soll dabei helfen, Ihren Chronotyp zu bestimmen (◘ Abb. 7.8). Er kann gut während der PCR oder Agarose-Gelelektrophorese beantwortet werden und ist auf eine direkte Verwendung im Klassenzimmer ausgelegt. Wählen Sie für jede Frage diejenige Antwort aus, die sie am besten beschreibt. Umkreisen Sie dafür die jeweiligen Punkte, sie sind später zur Auswertung wichtig. Sie finden den Fragebogen bei dem online verfügbaren Zusatzmaterial (sn.pub/rEt5bJ).

! Der Erfolg des Versuchs kann maßgeblich durch Vermeiden einiger Fehler gesteigert werden. Diese werden bei der Vorstellung der einzelnen Methoden spezifisch erläutert (▶ Kap. 5).



◘ **Abb. 7.7 Schematische Darstellung des 2 %-igen Agarose-Gels.** Der Vergleich der DNA-Fragmente des Eulen- und Lerchen-Allels, sowie deren Mischtyps ist gezeigt. Bp = DNA-Größenstandard 100 bp, L = Lerche ($Per^{5/5}$), MT = Mischtyp ($Per^{4/5}$), E = Eule ($Per^{4/4}$)

Tab. 7.2 Interpretation des Versuchsergebnisses auf der Ebene des Genotyps und Phänotyps

Versuchsergebnis PCR-Produkt	Genotyp*[1]	Phänotyp*[2]
1 Bande (280 bp)	LL (homozygot)	Lerche: Morgenaktivität
1 Bande (230 bp)	EE (homozygot)	Eule: Abendaktivität
2 Banden (250 bp)	LE (**heterozygot**)	Mischtyp

*[1] Da es sich bei der Variation des *PER3*-Gens um einen intermediären Erbgang handelt, haben wir uns gegen die klassische Groß- und Kleinschreibung der unterschiedlichen Allele entschieden
*[2] Auch der circadiane Rhythmus ist eine komplexe Maschinerie, die nicht nur auf die Genetik zurückzuführen ist, sondern auch maßgeblich von Umweltfaktoren beeinflusst wird (z. B. Tagesroutine, Bildschirmnutzung etc.). Deshalb ist die Ableitung des Phänotyps aus dem auf dem Gel sichtbaren Genotyp nur bedingt möglich

Fragebogen: Morgen-Abend-Präferenzen

1. Wenn es nur nach deinem eigenen Wohlbefinden ginge und du deinen Tag völlig frei einteilen könntest, wann würdest du dann aufstehen?

   [5] 05:00 - 06:30 Uhr
   [4] 06:30 - 07:45 Uhr
   [3] 07:45 - 09:45 Uhr
   [2] 09:45 - 11:00 Uhr
   [1] 11:00 - 12:00 Uhr

2. Wenn es nur nach deinem eigenen Wohlbefinden ginge und du deinen Tag völlig frei einteilen könntest, wann würdest du dann zu Bett gehen?



Abb. 7.8 Auszug aus dem Fragebogen zur Analyse der eigenen phänotypischen Aktivität

7.4 Checkliste

Im Folgenden finden Sie eine Auflistung aller notwendiger Reagenzien und Lösungen, sowie Hinweise zu deren Herstellung. Für einen reibungsfreien Ablauf der praktischen Einheit in Ihrem Unterricht, können Sie mehrere Vorbereitungen vornehmen. Genauere Informationen dazu entnehmen Sie bitte ► Kap. 5. Diese sind für ► Kap. 6, 7, 8, und 9 identisch. Die Angaben und Empfehlungen in diesem Kapitel werden häufig in Gruppen angegeben. Dabei entspricht eine Gruppe zwei Schüler*innen. Sie sind darauf ausgerichtet, den Versuch pro Person einmal vollständig durchzuführen. Sie können individuell entscheiden, mit welcher Gruppenstärke Sie

die Versuche durchführen wollen. Obwohl alle Schüler*innen mit ihrer eigenen Probe arbeiten, empfiehlt es sich, mindestens Zweier-Gruppen einzuteilen. Dadurch kann an Geräten gespart werden und eventuell verringern Teams die Fehlerrate.

7.4.1 Reagenzien

- *DPX™ DNA extraction buffer* (miniPCR™, USA)
- *EZ PCR Master Mix™ (5x), Load Ready™* (miniPCR™, USA): PCR-Puffer, Mg^{2+} Ionen, *Taq*-DNA-Polymerase, dNTPs (Deoxynukleosidtriphosphate), DNA-Auftragspuffer, 5x konzentriert
- *Sleep Lab Primer Mix, Load Ready™* (miniPCR™, USA): $\text{Primer}_{\text{vorwärts}}$, $\text{Primer}_{\text{rückwärts}}$
- NaCl-Lösung (0,9 %)

In ◘ Tab. 7.3 finden Sie Angaben, wie Sie die Reagenzien an eine Gruppe ausgeben können.

7.4.2 TBE-Puffer

Für die Agarose-Gel-Herstellung und die Agarose-Gelelektrophorese müssen Sie 1x TBE-Puffer herstellen. ◘ Tab. 7.4 zeigt, wie Sie abhängig von dem Konzentrat 1x TBE-Puffer herstellen. Bei der Herstellung wird destilliertes Wasser verwendet.

◘ **Tab. 7.3 Angabe über Volumina der Reagenzien zur Ausgabe an eine Gruppe**

Reagenz	Aliquot	Volumen [µL]
DPX™ DNA extraction buffer	1	110
EZ PCR Master Mix™	1	15
Sleep Lab Primer Mix™	1	50
NaCL-Lösung (0,9 %)	1	25.000

◘ **Tab. 7.4 Herstellung von 1x TBE-Puffer unterschiedlicher Volumina**

Reagenz	Volumen Konzentrat [mL]	Volumen dest. Wasser [mL]
TBE 10x konzentriert	10	90
TBE 20x konzentriert	5	95
TBE 10x konzentriert	100	900
TBE 20x konzentriert	50	950

Alternativ kann auch TAE-Puffer verwendet werden

Wichtig

Pro Agarose-Gel werden 30 mL 1x TBE-Puffer benötigt. Für die Agarose-Gelelektrophorese werden weitere 30 mL 1x TBE als Laufpuffer verwendet. Hierzu wird jedes Agarose-Gel vor dem Auftragen der Proben mit 30 mL 1x TBE-Puffer überschichtet.

Entsprechend ist die benötigte Menge an 1x TBE-Puffer direkt von der Menge benötigter Gele abhängig. Wie Sie bei der Berechnung vorgehen und nähere Informationen zur individuell benötigten Menge an 1x TBE-Puffer finden Sie unter ► Abschn. 7.4.3.

Wichtig

Der 1x TBE-Puffer kann bei Raumtemperatur gelagert werden. Eine Verwendung ist so lange möglich, wie keine Flocken in der Lösung erkennbar sind.

7.4.3 Agarose-Gel-Herstellung

Für die Herstellung der Agarose-Gele können Sie sich an ◘ Tab. 7.5 orientieren.

- Agarose für DNA-Elektrophorese (SERVA, Deutschland)
- TBE-Puffer (SERVA, Deutschland): Tris, EDTA-Na_2- Salz, Borsäure
- DNA-Stain GelGreen® *nucleic acid gel stain* (miniPCR™, USA): 10,000x in Wasser
- DNA-Größenstandard (miniPCR™, USA): 12 Banden im Bereich von 100–3000 bp

Alternativ kann TAE-Puffer (Tris, EDTA-Na_2- Salz, Essigsäure; SERVA, Deutschland) verwendet werden.

Tipp

Für den schulischen Gebrauch empfiehlt sich TBE-Puffer zu verwenden:

Die vollständige Verfestigung des Agarose-Gels verläuft im Vergleich zur Verwendung von TAE-Puffer schneller.

Agarose-Gele mit TBE-Puffer sind bei der Handhabung weniger empfindlich.

◘ **Tab. 7.5 Angaben zur Herstellung eines 2,0 %-igen Agarose-Gels**

Konzentration [%]	Agarose [g]	TBE-Puffer (1x) [mL]	DNA-Stain * [µL]
2,0	0,60	30	3

* Der DNA Stain wird im Verhältnis 1:10.000 zum verwendeten Puffer eingesetzt

Wichtig
Achten Sie darauf, dass sich die Agarose für die DNA-Analyse mittels Elektrophorese eignet.

Wichtig
Tragen Sie Handschuhe bei der Herstellung und Beladung der Agarose-Gele.

Bei diesem Versuch können pro Gel acht Proben und ein DNA-Größenstandard aufgetragen werden. Entsprechend können sich acht Personen ein Gel teilen. Es empfiehlt sich, den DNA-Größenstandard mittig auf das Agarose-Gel aufzutragen.

Die Anzahl der benötigten Agarose-Gele berechnet sich wie folgt:

$$Anzahl\ Gele = \frac{Gesamtanzahl\ Proben}{8} \tag{7.1}$$

Beispielrechnung:

Bei einer Klasse mit 24 Schüler*innen werden demnach 3 Gele benötigt.

Die nötige Menge an TBE-Puffer (1x konzentriert) in mL lässt sich wie folgt berechnen:

$$TBE_{Puffer} = (Anzahl\ Gele\ x\ 60\ mL) + 60\ mL \tag{7.2}$$

Bei drei Gelen benötigen Sie demnach 240 mL einer einfach konzentrierten TBE-Puffer Lösung. In dieser Angabe ist die Menge an TBE-Puffer für das Gießen der sechs Agarose-Gele sowie für die Verwendung als Laufpuffer in der Agarose-Gelelektrophorese einkalkuliert. Zudem werden bei dieser Berechnung zwei Fehlversuche bei der Agarose-Gel Herstellung mitberücksichtigt. Anhand der Beispielrechnung würden Sie sich 300 mL 1x TBE-Puffer herstellen. Ausgehend von einem 10x TBE-Konzentrat würden Sie für die Herstellung 30 mL 10x TBE-Konzentrat mit 270 mL destilliertem Wasser versetzten, um so Ihren 1x TBE-Puffer zu erhalten. Der Rechenweg ist nachfolgend dargestellt.

Zur Herstellung des 1x TBE-Puffers lässt sich die benötige Menge an TBE-Konzentrat in mL wie folgt berechnen:

$$Menge\ TBE_{Konzentrat}\ mL = \frac{Gesamtvolumen\ 1x\ TBE - Puffer\ mL}{Faktor\ des\ Konzentrats} \tag{7.3}$$

Für unser Beispiel ergeben sich so:

$$Menge\ 10x\ TBE_{Konzentrat}\ mL = \frac{300\ mL}{10} = 30\ mL \tag{7.4}$$

Die Menge an destilliertem Wasser in mL ergibt sich dann wie folgt:

$$Menge\ H_2O_{dest.}\ mL = Gesamtvolumen\ 1x\ TBE - Puffer\ mL - Menge\ TBE_{Konzentrat}\ mL \tag{7.5}$$

Bezogen auf unser Beispiel ergibt sich:

$$Menge\ H_2O_{dest.}\ mL = 300\ mL - 30\ mL = 270\ mL \tag{7.6}$$

7.5 Fachwissenschaftliche Information für Lehrkräfte

Als circadianen Rhythmus bezeichnet man die Fähigkeit eines Organismus, seine physiologischen Vorgänge sowie sein Verhalten mit dem 24-Stunden-Rhythmus der Erdumdrehung zu synchronisieren. Um die innere Uhr an die Umweltbedingungen anzupassen, nutzen Organismen sogenannte Zeitgeber als Informationsquelle, z. B. Licht, Temperatur und Nahrungsaufnahme. Werden diese Zeitgeber entzogen, z. B. Haltung in vollständiger Dunkelheit, bleiben sowohl die physiologischen Vorgänge als auch das Verhalten rhythmisch, gleichen aber nicht zwangsläufig einem 24-Stunden-Rhythmus (Panda et al., 2002). Daraus lässt sich die Begriffsbildung ableiten, denn „circadian" kommt aus dem Lateinischen von „circa diam" und bedeutet „ungefähr ein Tag" (Dyar & Eckel-Mahan, 2017).

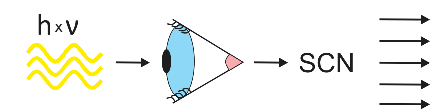
Seit sich Leben auf der Erde entwickelt hat, war es Tagesrhythmen ausgesetzt. Diese ergeben sich natürlicherweise aus der Erdrotation und haben sich im Laufe der Erdgeschichte verändert. Es gibt Annahmen, dass vor ca. 4 Milliarden Jahren eine Erdumdrehung innerhalb von 4 Stunden geschah und sich erst durch eine Veränderung der Distanz zum Mond auf 24 Stunden verlängerte (Bhadra et al., 2017).

7

Organismen, die über eine innere Uhr verfügen, können sich besser den gegebenen Umweltbedingungen anpassen und haben entsprechend einen Selektionsvorteil. Dafür spricht, dass die Anpassung des Verhaltens und der Physiologie in Abhängigkeit von Licht und Temperatur durch eine innere Uhr konserviert ist und in fast allen Organismen, von Cyanobakterien über Pflanzen bis hin zu Säugetieren, nachgewiesen werden konnte (Koronowski & Sassone-Corsi, 2021).

7.5.1 Genetische Komponenten des circadianen Rhythmus

Die Oszillationsphasen der inneren Uhr müssen täglich angepasst werden, wobei Licht als primäres Steuerelement fungiert. In der Evolution größerer Lebewesen wurde die Entwicklung einer photonen-unabhängigen Steuerung nötig. Nur so konnte eine Synchronisation des gesamten Organismus gewährleistet werden. Bei Menschen ist das der **Suprachiasmatische Kern (SCN)** (Hastings et al., 2020). Dieser sitzt im Hypothalamus und fungiert als „Master"-Zeitgeber, indem er visuelle Reize in alle Bereiche des Körpers weiterleitet (Bhadra et al., 2017; Ono et al., 2021; Sato et al., 2017). Eine schematische Darstellung der Reizweiterleitung des Lichteinfalls über das Auge ist in ◘ Abb. 7.9 zu sehen.



◘ **Abb. 7.9 Schematische Darstellung der Reizweiterleitung des Lichteinfalls über das Auge.** Licht fungiert bei Säugetieren als Zeitgeber vor allem über das Auge. Die Reizweiterleitung erfolgt an der Retina zum Suprachiasmatischen Kern (SCN), dieser wandelt das Signal in eine molekulare Antwort um. Diese Reize dienen der circadianen **Homöostase** im Körper

Betrachtet man beispielsweise das Gen *Crypotochrom-1* (*CRY1*), kommt dieses in Pflanzen, Fliegen, Mäusen und Menschen vor. In den Organismen übernimmt es allerdings unterschiedliche Funktionen. Bei Pflanzen steuert CRY1 direkt eine molekulare Antwort auf blaues Licht und wird sowohl mit dem circadianen, als auch dem **circannualen Rhythmus** in Verbindung gebracht (Yu et al., 2010). Auch in *Drosophila*-Fliegen steuert CRY1 die molekulare Antwort auf Licht (Emery et al., 1998; Krishnan et al., 2001). Bei Säugetieren ist CRY1 nur noch ein Transkriptionsrepressor und in unterschiedlicher Weise an Feedback-Schleifen beteiligt (Griffin et al., 1999).

7.5.2 Bedeutung für die Gesundheit

Eine Reihe genetischer Variationen der circadianen Gene sind statistisch mit verschiedenen Krankheitsbildern assoziiert worden, beispielsweise mit Winterdepression. Abhängig vom Breitengrad leiden weltweit 2–9 % der Menschen an Winterdepression. Der Schweregrad der Depression korreliert mit dem Ausmaß an Desynchronisation der inneren Uhr (Zhang et al., 2016).

Licht hat einen entscheidenden Einfluss auf die menschliche Physiologie sowie die Psyche und wird bereits erfolgreich zu therapeutischen Zwecken eingesetzt. Unter anderem können die Stimmung und das Sozialverhalten von Menschen mit saisonbedingter Depression verbessert und ein verschobener Schlaf-Wach-Rhythmus normalisiert werden. Auf den Schlaf-Wach-Rhythmus hat Licht nur im Zusammenhang mit der Kerntemperatur des Körpers einen Effekt: Lichtexposition vor der minimalen Körpertemperatur führt zu einer Verschiebung der Phase nach hinten, während die Lichtexposition nach der minimalen Körpertemperatur den gegenteiligen Effekt zur Folge hat (Akashi et al., 2010; Sato et al., 2017).

Bis heute konnte für viele Körperkompartimente eine 24-stündige Periodizität nachgewiesen werden, u. a. im Blutserum, Urin, Speichel und in verschiedenen Gewebetypen (Dyar & Eckel-Mahan, 2017). Auch die Körpertemperatur oszilliert im Tagesverlauf und scheint einen Einfluss auf den circadianen Rhythmus zu haben. So haben Frühaufsteher ein frühes Maximum der Körpertemperatur und Langschläfer ein spätes (Horne & Östberg, 1976).

Unterschiedliche Zelltypen reagieren auf verschiedene Zeitgeber; eine gute Kommunikation zwischen ihnen ist Voraussetzung für circadiane **Homöostase** und körperweite Synchronisation. Für peripheres Gewebe ist der Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme der stärkste Zeitgeber (Asher & Sassone-Corsi, 2015).

Erkenntnisse über Unterschiede im Metaboliten-Fluss und der Stoffwechselaktivität in Abhängigkeit des Tageszeitpunkts eröffnen neue Möglichkeiten in der personalisierten Medizin. Die Wirkeffizienz von Medikamenten könnte durch individuelle Anpassung an den eigenen Stoffwechsel verbessert werden (Dyar & Eckel-Mahan, 2017).

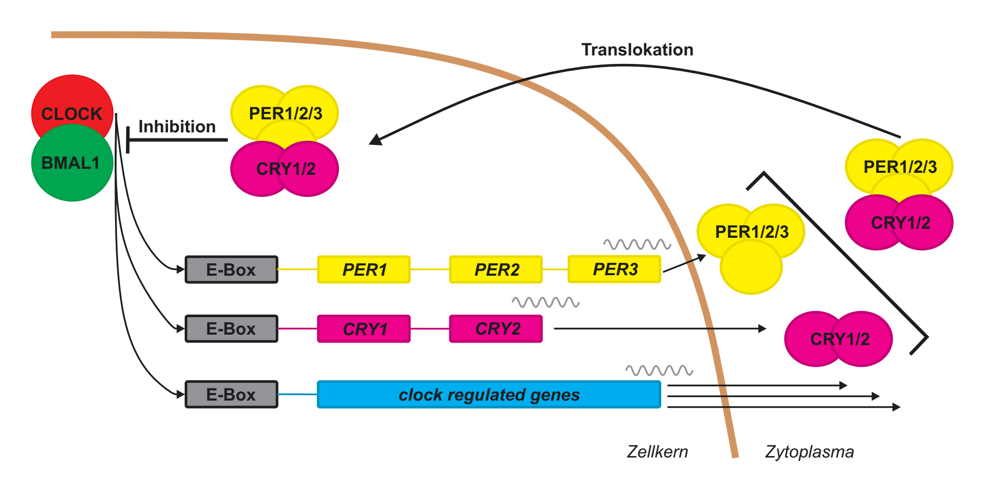
7.5.3 Die Komponenten der peripheren Uhr

In Säugetieren unterscheidet man zwei Systeme zur Regulation des circadianen Rhythmus. Zum einen die zentrale Uhr, die über den SCN im Hypothalamus Reize der Retina verarbeitet und diese neuronal oder hormonell an den gesamten Körper weiterleitet. Zum anderen die **periphere Uhr**, die in jedem Gewebe auf molekularer Ebene agiert und eine Oszillation aufrechterhält (Bhadra et al., 2017; Sato et al., 2017; Wang et al., 2013).

Die Kernkomponenten der peripheren Uhr sind in ◘ Abb. 7.10 grafisch vereinfacht dargestellt. Der Proteinkomplex aus CLOCK und BMAL1 bildet eine positive Schleife. Diese fungiert als Transkriptions-Aktivator für eine sogenannte *enhancer*-Box (E-Box). Sobald CLOCK/BMAL1 an die E-Box binden, wird die Transkription des darauffolgenden Gens gestartet. Eine Vielzahl unterschiedlicher Gene, z. B. Gene, die für den Zellzyklus oder den Lipid-Metabolismus zuständig sind, werden durch diesen Expressionsmechanismus gesteuert. Bei ihnen spricht man von *clock regulated genes* (Oishi et al., 2003).

Die *PER*- und *CRY*-Gene werden selbst durch eine E-Box reguliert und bilden gemeinsam die negative Feedback-Schleife. Akkumulieren PER- und CRY-Proteine im Cytoplasma, bilden sie Heterooligomere und wandern zurück in den Nukleus. Dabei wird das Heterodimer aus PER1/2 von PER3 stabilisiert und bindet in seiner eigentlichen Repressor-Funktion an CLOCK/BMAL1. CRY1/2 erleichtert die **Translokation** des PER1/2/3-Heterooligomers vom Cytoplasma in den Zellkern (Griffin et al., 1999; Turco et al., 2017; Wang et al., 2013).

Die Periodendauer der Oszillation ist durch die Zeit bedingt, die nötig ist, um so viel PER1/2/3 und CRY1/2 zu produzieren, dass eine effektive Hemmung stattfinden kann. Durch diese Hemmung und den gleichzeitig andauernden Protein-



◘ **Abb. 7.10 Schematische Darstellung der negativen Feedback-Schleife der peripheren Uhr.** Die einzelnen Komponenten der peripheren Uhr und ihre Interaktion sind gezeigt. Der Proteinkomplex CLOCK/BMAL1 aktiviert die *enhancer*-Box (E-Box), wodurch die Transkription aller circadian gesteuerter Gene startet. Dazu zählen auch die *PER*- und *CRY*-Gene. Deren Proteinkomplex hemmt wiederum nach Translokation in den Zellkern die Aktivierung durch CLOCK/BMAL1

abbau sinkt das Level an PER1/2/3 und CRY1/2 wieder, sodass die Genexpression erneut stattfindet und der Kreislauf von Neuem beginnt.

7.5.4 Genetische Variationen von *PER3*

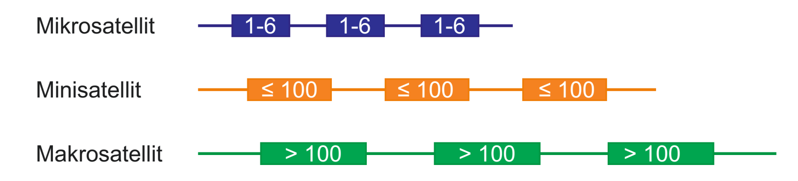
PER3 besitzt viele Polymorphismen und einige werden mit unterschiedlichen Schlaf-Wach-Rhythmen und Lichtsensitivität assoziiert (Turco et al., 2017). Polymorphismen sind Variationen desselben Gens innerhalb einer Population und können auf den Genotyp beschränkt sein, sodass sie keine Auswirkungen auf das Genprodukt und dessen Funktion haben. Von einer Assoziation spricht man, wenn es Hinweise für einen Zusammenhang zwischen einer Genvariation und einem Phänotyp, z. B. Krankheitsbild, gibt, aber die Funktionsweise noch nicht abschließend geklärt wurde. Das liegt häufig daran, dass einige Studien einen Zusammenhang beweisen, andere Gruppen allerdings keine reproduzierenden Daten liefern konnten.

Im Fall des *PER3*-Gens kann das vor allem durch die Vielzahl der Einflussmöglichkeiten auf die innere Uhr begründet werden. So könnten Tageslänge, Temperatur und Klima die Ergebnisse von Studien, abhängig vom Zeitpunkt und Ort, an dem sie erhoben wurden, beeinflussen (Turco et al., 2017).

7.5.5 *Variable number of tandem repeats* (VNTRs)

Variable number of tandem repeats (VNTRs) gehören zu den genetischen Variationen im menschlichen Genom, die zu einem Längenpolymorphismus führen. VNTRs bestehen aus Wiederholungen des gleichen DNA-Sequenzmotivs. Man unterscheidet Mikrosatelliten-Tandem-Repeats, bei denen das DNA-Sequenzmotiv 1–6 Basenpaare lang ist, Minisatelliten, bei denen das Motiv bis zu 100 Basenpaare lang sein kann, und Makrosatelliten, bei denen das Sequenzmotiv über 100 Basenpaare lang ist (Say, 2017). Diese Unterscheidung ist in ◘ Abb. 7.11 schematisch dargestellt.

VNTRs können eine Reihe verschiedener Funktionen ausüben, z. B. die Regulation der Transkription sowie Translation oder die Modifikation der Proteinstruktur. Da VNTRs sehr polymorph sind, sind sie sehr informativ und dienen als Marker, um genetische Positionen verschiedener Krankheiten zu entdecken (Say, 2017). Ein Beispiel dafür sind drei unterschiedliche Varianten von VNTRs im Insulin-Gen, die zu einer Variation der zugehörigen mRNA führen. Eine Version wird mit Typ 1-Diabetes assoziiert (Say, 2017).



◘ **Abb. 7.11 Unterscheidung von VNTRs in Abhängigkeit der Länge ihres DNA-Sequenzmotivs.** Schematische Darstellung von Mikro- (1–6 Bp), Mini- (–100 Bp) und Makrosatelliten (>100 Bp), die sich in der Länge ihres DNA-Sequenzmotivs unterscheiden

PER3 hat VNTRs mit einem DNA-Sequenzmotiv für 18 Aminosäuren, das entweder viermal oder fünfmal wiederholt wird. Dieses Motiv ist eine mögliche Phosphorylierungsstelle und könnte damit die Funktion des *PER3*-Gens beeinflussen. Die Forschung geht momentan davon aus, dass vier Repeats zu physiologischer Abendtätigkeit (Langschläfer – Eule) und fünf zu physiologischer Morgentätigkeit (Frühaufsteher – Lerche) führen (Archer et al., 2003; Turco et al., 2017). Auch konnte ein Zusammenhang mit Schlafqualität, Schlafeigenschaften und unterschiedlicher Leistungsfähigkeit bei Schlafmangel nachgewiesen werden (Viola et al., 2007). Die genaue Funktion von PER3 ist noch nicht geklärt. Es gibt die Hypothese, dass PER3 die innere Uhr über die Stabilisierung von PER1/2 beeinflusst und eventuell Teil der nicht-visuellen Reaktion auf Licht ist. Dafür würde sprechen, dass Personen mit dem homologen $PER3^{4/4}$ schwächer als Personen mit $PER3^{5/5}$ auf die Exposition von blauem Licht, während der Nacht reagieren. Allerdings reagieren $PER3^{4/4}$ stärker auf Lichtexposition am Morgen (Turco et al., 2017).

$PER3^{5/5}$ kommt in den meisten ethnischen Gruppen deutlich seltener vor als $PER3^{4/4}$, deshalb wird davon ausgegangen, dass $PER3^{4/4}$ die ursprüngliche Form ist (Turco et al., 2017; Viola et al., 2007).

7

7.5.6 Fragebogen zur Bestimmung der Morgen-Abend-Präferenz

Der 1976 von Horne & Österberg entwickelte Fragebogen wird am häufigsten verwendet, um Morgen- bzw. Abendaktivität zu ermitteln. Er dient in der Forschung auch dazu, Variationen des Genotyps mit Ausprägungen im Phänotyp zu korrelieren.

Für eine hohe Aussagekraft muss ein Fragebogen validiert werden. Horne & Österberg validierten ihren Fragebogen damals mit einer vergleichsweise jungen Altersgruppe zwischen 18–32 Jahren und kamen zu dem Ergebnis, dass etwa 50 % der Bevölkerung morgens aktiv sind und nur 6 % abends (Horne & Östberg, 1976). Eine neuere Untersuchung hat den Fragebogen angepasst und ermittelte eine Verteilung von etwa 25 % Morgenaktivität und 25 % Abendaktivität. Diese Studie konnte auch einen Unterschied der Präferenzen mit zunehmendem Alter feststellen (Paine et al., 2006).

Bei Fragebögen ist zu beachten, dass es sich um eine Selbsteinschätzung handelt und die Ergebnisse von der gewählten statistischen Methode abhängen können. Die hier verwendete Übersetzung wurde von Griefahn et. al. erstellt und validiert (Griefahn et al., 2001). Sie können auf den Fragebogen online zugreifen (sn.pub/rEt5bJ).

7.6 Didaktische Überlegungen für Ihren Unterricht

7.6.1 Lehrplanbezug und Kompetenzförderung

Bereits in der Einleitung wurde darauf hingewiesen, dass eine Betrachtung der Genetik im Kontext der Evolution sehr sinnvoll ist, um vielen Präkonzepten vorzu-

beugen (Abschn. ► 4.2). Allerdings verknüpft kein Modul in diesem Buch die beiden Aspekte auf so fundamentale Weise wie der circadiane Rhythmus. Zum einen ist er Reich-übergreifend und nicht auf Säugetiere und insbesondere den Menschen beschränkt. Gene und Mechanismen zur Regulierung des circadianen Rhythmus, d. h. die Anpassung an die variierenden Lichtverhältnisse aufgrund der Erdrotation, finden sich in vielen Organismen auch aus anderen Reichen (► Abschn. 7.5.1). Dieser Kontext ermöglicht deshalb neben der Struktur-Funktions-Beziehung Gen – Protein – Funktion eine weitere Perspektive auf verschiedenen Systemebenen. So erfolgt die Annahme über einen gemeinsamen Vorfahren über die Ähnlichkeitslehre, da Komponenten des circadianen Rhythmus auch in Einzellern konserviert sind. Damit stimmen sie mit unseren Komponenten überein, können als Beispiel für solche Ähnlichkeiten herangezogen werden und ermöglichen es Ihnen, im Rahmen der Artenlehre die Begründungen zu reflektieren, weshalb die Wissenschaft von einem ursprünglichen gemeinsamen Vorfahren ausgeht. Ein weiteres bekanntes Beispiel sind die hochkonservierten Heat-Shock-Proteine (Ehrnsperger et al., 1997; Mühlhofer et al., 2021; Richter et al., 2010) die gleichermaßen in Bakterien, Pflanzen und tierischen Organismen zu finden sind.

Einen weiteren Zugang bieten die Verhaltensbiologie und die abiotischen Einflussfaktoren, insbesondere die Verfügbarkeit von Licht in Abhängigkeit des circadianen Rhythmus mit Verknüpfung zu unserem modernen Leben, z. B. Bildschirmzeit, Jetlag. ► Tab. 4.1 zeigt, wie Sie alle Basiskonzepte der Biologie, d. h. System, Struktur & Funktion sowie Entwicklung adressieren können.

In der Genetik nimmt dieses Modul eine Sonderstellung ein, da der zugrundeliegende Mechanismus auf VNTRs (► Abschn. 7.5.5) basiert. Wie in ► Kap. 6 erläutert, werden diese Formen der Mutation häufig zur Personenidentifizierung genutzt, weil sie eben nicht direkt auf Personenmerkmale zurückzuführen sind. Im Falle des *PER3* (► Abschn. 7.5.4) sind sie es allerdings, denn dadurch verändert sich die Struktur des Proteins, wodurch eine ansonsten schwer zugängliche Struktur-Funktions-Beziehung der Mutation lebensnah erfahrbar wird.

Eine Übersicht zu möglichen Lernbereichen und deren Kompetenzerwartungen ist in ◘ Tab. 7.6 zusammengefasst.

◘ **Tab. 7.6 Lernbereiche und Kompetenzerwartungen zum Modul *Eat, Sleap, Repeat***

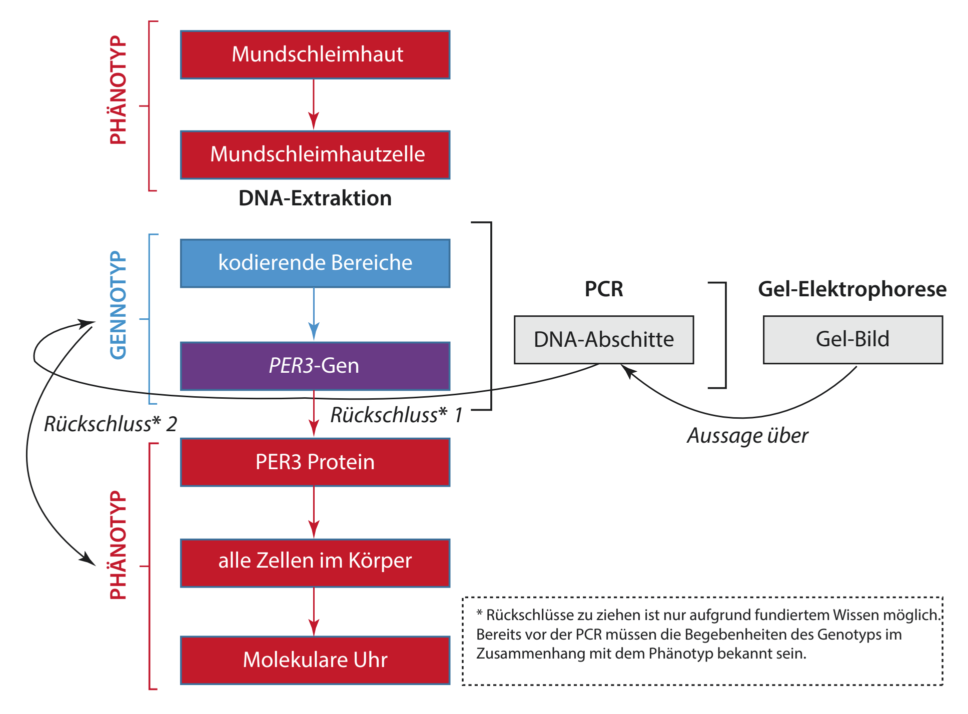
Lernbereich	Relevante Kompetenzerwartungen und Inhalte
Speicherung und Realisierung genetischer Information	Schüler*innen erläutern die Aufgaben und das Zusammenwirken von Proteinen bei der Ausbildung von Merkmalen, Genwirkkette *Der circadiane Rhythmus kann beim Verständnis dieses Zusammenhangs eine Sonderstellung einnehmen, weil das untersuchte Gen und dazugehörige Protein keinen direkten Einfluss auf einen makroskopischen Phänotyp hat, wie z. B. das Rezeptorprotein aus dem Modul Taste Impossible (*► Kap. 8*), sondern im Rahmen eines Mechanismus auf die Transkription vieler Gene Auswirkungen hat, die wiederum den submikroskopischen und makroskopischen Phänotyp beeinflussen.*

Tab. 7.6 (Fortsetzung)

Lernbereich	Relevante Kompetenzerwartungen und Inhalte
Regulation der Genaktivität	Schüler*innen beschreiben mögliche Mechanismen zur Regulation der Genaktivität, um zu erklären, warum trotz gleicher genetischer Ausstattung von Zellen diese unterschiedliche Eigenschaften aufweisen können und so eine flexible Anpassung an Umweltbedingungen sowie eine Entwicklung und Spezialisierung in lebendigen Systemen möglich ist. *Die Sonderstellung der molekularen Uhr als zentrales Steuerelement kann deutlich hervorgehoben werden, weil sie zu der Genausstattung aller Zellen gehört.*
Veränderung genetischer Information	Genmutationen: Austausch, Verlust oder Einschub von Nukleotiden; Ursachen von Genmutationen (Mutagene) und Auswirkungen auf die Proteinfunktion *Die genetischen Konzepte können in einem anderen Licht betrachtet werden, denn der Längenpolymorphismus beeinträchtigt nicht die Funktionalität des Proteins im eigentlichen Sinne. PER3 ist immer noch in der Lage, ein Heterooligomer mit PER1 und PER2, sowie CRY1 und CRY2 zu bilden, aber durch die zusätzliche Ubiquitinierungsstelle wird es schneller von Ubiquitin erkannt und entsprechend abgebaut, was die vorgesehene Hemmung von CLOCK/BMAL1 verkürzt. Damit kann das komplexe Zusammenspiel verschiedener Regulationsmechanismen demonstriert werden.*
Evolutionsforschung und Mechanismen der Evolution	Homologie molekularer Merkmale: Basensequenzvergleich, Aminosäuresequenzvergleich *Der circadiane Rhythmus und seine molekularen Komponenten dienen als Beispiel für genetische Homologie über die Reiche hinweg und damit als Hinweis auf einen gemeinsamen Vorfahren. In dem Kontext könnten sich auch tatsächliche Homologie-Analysen anbieten.*
Reizweiterleitung	*Der Mensch als Multizellorganismus braucht spezifische Weiterleitungssysteme, um die innere Uhr mit der Umgebungszeit zu synchronisieren. Einer von diesen wird über den SCN gesteuert, welcher die Information über blaues Licht weiterleitet. Dies kann als Beispiel für das komplexe Zusammenspiel verschiedener Reizweiterleitungsmechanismen genutzt werden (physikalisches Signal Licht → chemisches Signal Neuron → chemisches Signal Hormone). Auch sind Querverweise zu anderen Mechanismen möglich, z. B. G-Protein-gekoppelte Signalkaskade (*► Abschn. 8.5.3*).*

7.6.2 Schülerorientierung

Schüler*innen fehlt oftmals das Verständnis der Gene als chemische Stoffe, deren Auswirkungen innerhalb des Systems biochemischer Natur sind (Kattmann, 2005) (► Kap. 4). Die molekularen Mechanismen des circadianen Rhythmus eignen sich besonders gut, um an diese Vorstellung anzuknüpfen, denn die Auswirkungen der genetischen Variation sind nicht auf einen Faktor beschränkt und werden auch nicht nur von einem Faktor beeinflusst. Entsprechend kann die notwendige Trennung von Genotyp und Phänotyp direkt diskutiert werden (Schwanewedel, 2006; Schwanewedel et al., 2008). Das kann beispielsweise über den Wechsel der Systemebenen geschehen (Hammann, 2019; Kattmann, 2005, 2015): Erstens die Gene und



◘ Abb. 7.12 **Darstellung der Zusammenhänge zwischen genetischen und phänotypischen Grundlagen sowie deren Verknüpfung mit molekularbiologischen Methoden.** Am Beispiel *Eat, Sleep, Repeat* wird der Ebenenwechsel (Genotyp – Analyse – Phänotyp) grafisch verdeutlicht

ihre Aktivierung durch die *enhancer*-Box (Genotyp, ► Abschn. 7.5.3 und ◘ Abb. 7.10); zweitens die Proteine, deren Stabilität (Phänotyp) die Aktivierung auf Gen-Ebene beeinflusst. Ferner führt diese unterschiedliche Stabilität der circadianen Proteine zu einer unterschiedlichen Aktivierung vieler weiterer Gene. Das Zusammenspiel dieser *clock regulated genes* ergibt dann den chronotypischen Phänotyp, welcher als dritte Ebene betrachtet werden kann. ◘ Abb. 7.12 verdeutlicht diese komplexen Zusammenhänge von Genotyp und Phänotyp und deren Verknüpfung über die drei verschiedenen Analyseschritte DNA-Extraktion, PCR und Agarose-Gelelektrophorese.

Da die Thematik komplex ist, kann man den Phänotyp auf submikroskopischer und makroskopischer Ebene adressieren. Einerseits ist der Phänotyp des Proteinkomplexes relevant, dessen Struktur nicht direkt beobachtbar ist, jedoch das Protein als Merkmal des entsprechenden Gens exprimiert wird. Für Fortgeschrittene kann an dieser Stelle der Querverweis zur bitteren Geschmackswahrnehmung auf der makroskopischen Ebene gezogen werden, bei dem die exprimierten Proteine maßgeblich den Phänotyp des bitteren Geschmackserlebens beeinflussen (► Abschn. 8.5). In diesem Modul werden die Auswirkungen eines Proteinkomplexes auf die Aktivierung anderer Gene und nachfolgend auf den beobachtbaren Schlafrhythmus und das Verhalten sichtbar. Mit Blick auf den alltäglichen Kontext der Nutzung von Bildschirmen, Tablets und Smartphones in den (dunklen)

Abendstunden – damit für die Schüler relevant und von besonderem Interesse – kann der Einfluss von blauem Licht direkt auf die Genexpression diskutiert werden.

7.6.3 Umsetzung *Eat, Sleep, Repeat* im Rahmen des Digitalen Kooperierens

Kooperatives Lernen ist eine beliebte Unterrichtsmethode im naturwissenschaftlichen Unterricht, um die Motivation und Lernergebnisse der Schüler*innen sowie die Selbstregulation beim Lernen zu unterstützen und zu fördern. Die Entwicklungs- und Sozialpsychologie sowie die Bildungsforschung haben in zahlreichen Studien gezeigt, dass Schüler*innen zu zweit oder in Kleingruppen bessere Lernergebnisse als alleine erzielen (Hmelo-Silver & Jeong, 2020; Jeong et al., 2019), insbesondere für naturwissenschaftlichen Unterricht können für digital unterstütztes kooperatives Lernen Effekte mittlerer Größe nachgewiesen werden (Hmelo-Silver & Jeong, 2020). Die Überlegenheit der gemeinsamen Lernprozesse ist unabhängig davon, ob digitale Medien bei der Zusammenarbeit zum Einsatz kommen oder nicht. Jedoch ist zu beachten, dass kollaboratives Lernen nicht *per se* effektiv ist, weil produktive soziale Interaktionen häufig nicht spontan stattfinden. Daher müssen kooperative Lernumgebungen (optional mit digitalen Medien) klug gestaltet werden, damit sie lernförderliche Interaktionen auslösen und zu positiven Lernergebnissen führen (Dillenbourg & Fischer, 2007). Dies kann z. B. durch Lernmaterial und Aufgabenstellungen geschehen, in der gemeinsames Verständnis einer bestimmten Problemlösung explizit gefordert ist, auch durch die direkte Aufforderung zu bestimmten Äußerungen über *Prompts* in digitalen Lernumgebungen oder durch Strukturierung der Zusammenarbeit mithilfe von *Kooperationsskripts*, die eine Handlungsabfolge und spezifische Rollen mit bestimmten Aufgaben vorgeben und somit als Drehbuch für die Zusammenarbeit fungieren (Kiemer et al., 2018).

In der internationalen Forschungsliteratur wird zwischen *kooperativem* und *kollaborativem* Lernen unterschieden (Weinberger et al., 2020). Unter kooperativem Lernen werden solche Lernszenarien zusammengefasst, bei denen die Schüler*innen *arbeitsteilig* Aufgaben erfüllen, d. h. die individuellen Ergebnisse ihrer Bearbeitung sammeln und gemeinsam weiterverwerten, ohne dabei intensiv miteinander zu interagieren. Dagegen zeichnen sich kollaborative Lernarrangements dadurch aus, dass Schüler*innen komplexe Aufgaben *gleichzeitig* und *gemeinsam* in enger Abstimmung bearbeiten und diskutieren, sodass die individuellen Beiträge nicht mehr eindeutig bestimmbar sind (Vogel & Fischer, 2020; Weinberger et al., 2020). Die Übergänge zwischen diesen beiden Formen der Zusammenarbeit sind fließend und können sowohl miteinander als auch mit individuellem Lernen und Klassenunterricht nach den Zielsetzungen und inhaltlichen Erfordernissen des Biologieunterrichts abwechseln (Dillenbourg & Fischer, 2007).

Die Einteilung kooperativ vs. kollaborativ gilt auch unabhängig von der Nutzung digitaler Medien; beide Formen können jedoch durch diese zusätzlich unterstützt werden. Damit können digitale Medien sowohl beim gemeinsamen Lernen in Präsenz im Biologieunterricht Anwendung finden oder die Zusammenarbeit in Computer-vermittelten Szenarien erst ermöglichen (◘ Tab. 7.7). Aus der

Tab. 7.7 Unterschiedliche kooperative bzw. kollaborative (computermediierte) Lernszenarien mit und ohne Unterstützung digitaler Medien am Beispiel des circadianen Rhythmus

Gemeinsame Präsenz	**Ohne** Unterstützung durch digitale Medien	Kooperatives/kollaboratives Lernen im Biologieunterricht mit entsprechenden (arbeitsteiligen) Unterrichtsmethoden (► Abschn. 8.6.3, Gruppenpuzzle) sowie analogen Medien und Arbeitsweisen (z. B. Infotexte , Arbeitsblätter, Modelle, Experimente usw.).
	Mit Unterstützung durch digitale Medien	Schüler*innen nutzen bei ihrer Zusammenarbeit im Biologieunterricht gemeinsam digitale Medien, um Arbeitsergebnisse und Problemlösungen zu erzielen, z. B. Erklärvideos, digitale Messgeräte, Smartboards etc.
Computermediierte Lernszenarien		Die Zusammenarbeit wird über digitale Medien vermittelt; Aufgaben und Problemlösungen werden mit geeigneten Tools und Apps zeitlich *synchron* oder *asynchron* erarbeitet.

Forschungssicht sind in diesem Zusammenhang diejenigen Fragestellungen von besonderem Interesse, wie Technologien kollaborative Funktionen unterstützen können, die in *Face-to-Face*-Situationen nicht verfügbar sind (Dillenbourg & Fischer, 2007), z. B. durch dauerhaft verfügbare gemeinsam erstellte Arbeitsergebnisse, Notizen und Visualisierungen, augmentierte Informationen in der (realen) Lernumgebung oder *Virtual Reality*.

Bei gemeinsamer Präsenz im Biologieunterricht befinden sich die Schüler*innen zusammen an einem Lernort, z. B. Klassen- oder Fachraum, einem außerschulischen Lernort oder auf Exkursion etc., und sie können unmittelbar miteinander sowie mit einer oder mehreren digitalen Technologien interagieren (Weinberger et al., 2020). Die soziale Situation kann sich positiv auf die Motivation und Kommunikation der Lernenden auswirken und das gemeinsame Lernen unterstützen. Unter anderem kommen als digitale Medien Computer oder mobile Geräte wie Laptops oder Tablets und Smartphones zum Einsatz. Auf diese Weise kann die Schülerkooperation auch digital unterstützt werden, sollten nicht genügend Endgeräte für jede*n Schüler*in im Biologieunterricht vorhanden sein. Als Beispiel für den naturwissenschaftlichen Bereich ist u. a. die kollaborative Bearbeitung von Simulationen im EU-Projekt CoLab untersucht worden, die forschendes Lernen mit digitalen Endgeräten unterstützt (Ehmke & Wünscher, 2003). Tablets können darüber hinaus als kleine Table Tops eingesetzt werden, an dem kleine Gruppen von Lernenden gemeinsam Lernaufgaben bearbeiten. Als sonstige digitale Technologien spielen automatisierte Messwerterfassung und deren Datenverarbeitung für den naturwissenschaftlichen Unterricht eine Rolle. Auch beim Einsatz dieser digitalen Medien müssen sich Schüler*innen im Rahmen einer experimentellen Planung darüber verständigen, welche Variablen kontrolliert, welche Messwerte erfasst und wie die resultierenden Daten ausgewertet und interpretiert werden sollen.

Die computermediierten Lernszenarien sind dadurch gekennzeichnet, dass alle Arten von gemeinsamem Lernen räumlich verteilt sind, d. h. sie können entweder synchron (zeitgleich) oder asynchron (zeitlich versetzt) stattfinden (Tab. 7.8). Synchron wird zusammengearbeitet, wenn Schüler*innen beispielsweise in Chats

■ Tab. 7.8 **Vorschläge für kooperative und kollaborative Unterrichtsbausteine in gemeinsamer Präsenz bzw. in computermediierten Lernszenarien;** die Zusammenarbeit der Schüler*innen wird über unterschiedlich offene Zielsetzungen initiiert. Die Beispiele beziehen sich auf dieses Modul und auf die Kontexte in diesem Buch

	kooperativ (mit definierter Zielsetzung)	**kollaborativ (mit tendenziell offener Zielsetzung)**
Gemeinsame Präsenz	Aufgabenteilung am Computer/Tablet *Schüler*innen erarbeiten mithilfe von Internetquellen arbeitsteilig das Fach- und Methodenwissen sowie die praktischen Arbeitsweisen zum Circadianen Rhythmus (vgl. Gruppenpuzzle,* ► Abschn. 8.6.3*). Sie führen PCR und Agarose-Gelelektrophorese selbstständig und arbeitsgleich in Tandems durch. Sie werten die Gel-Bilder aus, reflektieren ihre Ergebnisse mit weiteren Tandems. Dabei können digitale Medien zur Erstellung von Grafiken und Texten im Rahmen der Versuchsprotokollierung genutzt werden.*	Gemeinsame Interaktion am Computer/Tablet *Schüler*innen diskutieren und explorieren am Computer oder Tablet in einer Simulation gemeinsam erstellte Versuchspläne zum Stoffwechsel der Hefe (► Abschn. 10.5.1.2), um die Einflussvariablen zu untersuchen.*
Computermediierte Lernszenarien synchron	Wissen zeitgleich teilen und zusammenführen *Um ihr Wissen über die PCR und die Agarose-Gelelektrophorese vorbereitend auf die Durchführung dieses Moduls zu teilen und einen grafische Ablaufplan zu erstellen (vgl. Flipped Classroom,* ► Abschn. 6.6.3*), verabreden sich die Schüler*innen zu einem Chat an einem digitalen Whiteboard.* Apps und Tools: Videokonferenz, Chats, shared Dokuments, geteilte Ordner/Dateien	Gemeinsames zeitgleiches Problemlösen in Online-Gruppen; *Lernende diskutieren uneindeutige Fälle von Lerchen und Eulen in ihrem Biologiekurs unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Datenquellen (PCR/Gelelektrophorese und Fragebogen) und reflektieren gemeinsam die Aussagekraft der Daten aus den unterschiedlichen Quellen (vgl. Forschendes Lernen,* ► Abschn. 10.7.2*). Dabei fertigen sie ein gemeinsames Diagramm mit Wertetabelle für den gesamten Biologiekurs an.* Apps und Tools: Videokonferenz, Chats, shared Dokuments, geteilte Ordner/Dateien

(Fortsetzung)

Tab. 7.8 (Fortsetzung)

	kooperativ (mit definierter Zielsetzung)	**kollaborativ (mit tendenziell offener Zielsetzung)**
Computermediierte Lernszenarien asynchron	Wissen zeitversetzt teilen und zusammenführen *Um die Ergebnisse der PCR auszuwerten und die prozentualen Anteile an Lerchen und Eulen in der Klasse zu bestimmen, teilen sie die Fotos der Agarose-Gele im Anschluss an den Kurstag in einem Wiki und kommentieren hier ihren Genotyp und Phänotyp (*▶ Abschn. 7.3*). Sie diskutieren ihre individuellen Interpretationen der Gelbilder und die Zusammensetzung des Biologiekurses in einem Diskussionsforum.* Apps und Tools: Wikis, Disskussionsforen, e-mail, social media	Gemeinsames zeitversetztes Problemlösen in Online-Gruppen *Lernende sammeln in einem Diskussionsforum Argumente für und gegen den Einfluss von künstlichem und natürlichem Licht auf den beobachtbaren Schlafrhythmus und das Verhalten, um zu einer gemeinsamen Einschätzung der Wirkung zu gelangen.* Apps und Tools: Disskussionsforen, E-mail geteilte Ordner/ Dateien, *social media*

oder Videokonferenzen gemeinsam komplexe biologische Fragestellungen untersuchen oder Probleme lösen (Weinberger et al., 2020). Des Weiteren kommen zur Unterstützung dieser Form geteilte Dokumente (Crypt Pad) oder auch kollaborative Whiteboards zum Einsatz. Zum asynchronen Lernen bieten sich Diskussionsforen an, die die wechselseitige Bezugnahme in verschiedenen Themensträngen ermöglichen. Bei dieser Variante können die Schüler*innen individuell ihre Beiträge vorbereiten, was sich positiv auf deren Qualität auswirken kann.

Die Art der Zusammenarbeit der Schüler*innen sollte durch die Zielsetzungen im Unterricht und die Komplexität der damit einhergehenden Aufgabenstellungen bestimmt werden. Mit Blick auf Erwerb komplexer molekularbiologischer Konzepte und naturwissenschaftlicher Arbeitsweisen werden daher in Anlehnung an Weinberger et al. (2020) Vorschläge konkretisiert, die die Zielsetzung und Aufgabengestaltung für die Einbindung der hier besprochenen molekularbiologischen Themen berücksichtigen (◘ Tab. 7.8).

7.7 Online-Material

Zur weiteren Vertiefung steht Ihnen zusätzliches Material online zur Verfügung (sn.pub/rEt5bJ). Unter anderem finden Sie dort die Flussdiagramme zu den Abläufen des praktischen Vorgehens in detaillierter Ausführung. Diese eignen sich als Arbeitsanweisungen für Schüler*innen für die praktische Umsetzung und können direkt ausgedruckt werden. Entsprechend stehen Ihnen auch die Bild- und Videodateien zur Nutzung im Unterricht zur Verfügung.

Des Weiteren finden Sie dort verschiedene Aufgabenformate zu versuchsspezifischen Fragen. Die Musterlösungen werden Ihnen dort ebenfalls zur Verfügung gestellt.

► Auszug eines Arbeitsblatts für *Eat, Sleep, Repeat*

Das Licht von Smartphones, Tablets und Laptops beeinflusst unseren Hormonhaushalt negativ. Wir leiden daher häufig an Schlafstörungen. Erklären Sie diesen Zusammenhang. ◄

Das hier vorgestellte Versuchskonzept kann ohne weitere Sicherheitsregularien an Schulen durchgeführt werden. Trotzdem können Sie online die entsprechenden Sicherheitsdatenblätter abrufen (sn.pub/rEt5bJ).

Zusammenfassung

Eat, Sleep, Repeat – Der circadiane Rhythmus beeinflusst uns alle und wir nehmen durch Technologien, z. B. blaues Bildschirmlicht, auf ihn Einfluss. Dieser Versuch gibt Einblicke, wie unser Körper genetisch flexibel auf äußere Einflüsse reagieren kann. Dazu wird ein beteiligtes Gen der inneren Uhr auf wiederholende Einheiten (*repeats*, VNTRs) untersucht, welche genotypisch Aufschluss über Frühaufsteher und Langschläfer gibt. Damit ermöglicht dieses Kapitel, eine gängige Mutationsform der DNA in einem persönlichen Kontext erfahrbar zu machen.

Dieses Kapitel enthält eine detaillierte Anleitung zur Durchführung mit wichtigen Hinweisen, wie Sie typische Fehler adressieren können.

Diese praktische Einheit kann an die individuellen Bedürfnisse Ihres Unterrichts angepasst werden, dazu werden Hilfestellungen gegeben.

Literatur

Akashi, M., Soma, H., Yamamoto, T., Tsugitomi, A., Yamashita, S., Yamamoto, T., … Node, K. (2010). Noninvasive method for assessing the human circadian clock using hair follicle cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 107*(35), 15643–15648.

Archer, S. N., Robilliard, D. L., Skene, D. J., Smits, M., Williams, A., Arendt, J., & Schantz, M. (2003). A length polymorphism in the circadian clock gene Per3 is linked to delayed sleep phase syndrome and extreme diurnal preference. *Sleep, 26*(4), 413–415.

Asher, G., & Sassone-Corsi, P. (2015). Time for food: The intimate interplay between nutrition, metabolism, and the circadian clock. *Cell, 161*(1), 84–92. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.015

Bhadra, U., Thakkar, N., Das, P., & Pal Bhadra, M. (2017). Evolution of circadian rhythms: From bacteria to human. *Sleep Medicine, 35*, 49–61. https://doi.org/10.1016/j.sleep.2017.04.008

Dillenbourg, P., & Fischer, F. (2007). Computer-supported collaborative learning: The basics. *Zeitschrift für Berufs-und Wirtschaftspädagogik, 21*, 111–130.

Dyar, K. A., & Eckel-Mahan, K. L. (2017). Circadian metabolomics in time and space. *Frontiers in Neuroscience, 11*, 369. https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00369

Ehmke, T., & Wünscher, T. (2003). CoLab-Eine Online-Lernplattform für kollaboratives und kooperatives Lernen im mathematisch-naturwissenschaftlichen Unterricht. *Der Mathematikunterricht, 49*(4), 71–77.

Ehrnsperger, M., Gräber, S., Gaestel, M., & Buchner, J. (1997). Binding of non-native protein to Hsp25 during heat shock creates a reservoir of folding intermediates for reactivation. *The EMBO Journal, 16*(2), 221–229. https://doi.org/10.1093/emboj/16.2.221

Emery, P., So, W. V., Kaneko, M., Hall, J. C., & Rosbash, M. (1998). CRY, a *Drosophila* clock and light-regulated cryptochrome, is a major contributor to circadian rhythm resetting and photosensitivity. *Cell, 95*(5), 669–679.

Griefahn, B., Künemund, C., Bröde, P., & Mehnert, P. (2001). Zur Validität der deutschen Übersetzung des Morningness-Eveningness-Questionnaires von Horne und Östberg: The Validity of a German Version of the Morningness-Eveningness-Questionnaire Developed by Horne and Östberg. *Somnologie, 5*(2), 71–80.

Griffin, E. A., Staknis, D., & Weitz, C. J. (1999). Light-independent role of CRY1 and CRY2 in the mammalian circadian clock. *Science, 286*(5440), 768–771.

Hammann, M. (2019). Organisationsebenen biologischer Systeme unterscheiden und vernetzen: Empirische Befunde und Empfehlungen für die Praxis. In J. Groß, M. Hammann, P. Schmiemann, & J. Zabel (Hrsg.), *Biologiedidaktische Forschung: Erträge für die Praxis* (S. 77–91). Springer Spektrum.

Hastings, M. H., Smyllie, N. J., & Patton, A. P. (2020). Molecular-genetic manipulation of the suprachiasmatic nucleus circadian clock. *Journal of Molecular Biology, 432*(12), 3639–3660. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.01.019

Hmelo-Silver, C. E., & Jeong, H. (2020). Benefits and challenges of interdisciplinarity in CSCL research: A view from the literature. *Frontiers in Psychology, 11*, 579986. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.579986

Horne, J. A., & Östberg, O. (1976). A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology, 4*, 97–110.

Jeong, H., Hmelo-Silver, C. E., & Jo, K. (2019). Ten years of computer-supported collaborative learning: A meta-analysis of CSCL in STEM education during 2005–2014. *Educational Research Review, 28*, 100284.

Kattmann, U. (2005). Charakterlose Gene. Konzepte und Denkfiguren zur Vererbung. *Bioskop*, 4/5, 23–25.

Kattmann, U. (2015). Die Neigung, Fehler zu machen, und wie man mit ihnen lernen kann. Themenheft: Fehler-Neigung und Didaktische Rekonstruktion. (Seminar 04/2015).

Kiemer, K., Wekerle, C., & Kollar, I. (2018). Kooperationsskripts beim technologieunterstützten Lernen. In H. Niegemann & A. Weinberger (Hrsg.), *Lernen mit Bildungstechnologien* (S. 1–15). Springer Berlin Heidelberg.

Koronowski, K. B., & Sassone-Corsi, P. (2021). Communicating clocks shape circadian homeostasis. *Science (New York, N. Y.), 371*(6530). https://doi.org/10.1126/science.abd0951

Krishnan, B., Levine, J. D., Lynch, M. K., Dowse, H. B., Funes, P., Hall, J. C., … Dryer, S. E. (2001). A new role for cryptochrome in a *Drosophila* circadian oscillator. *Nature, 411*(6835), 313–317. https://doi.org/10.1038/35077094

Lench, N. (1988). Simple Non-Invasive Method To Obtain DNA For Gene Analysis. The Lancet, 331(8599), 1356–1358. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(88)92178-2

Mühlhofer, M., Peters, C., Kriehuber, T., Kreuzeder, M., Kazman, P., Rodina, N., … Buchner, J. (2021). Phosphorylation activates the yeast small heat shock protein Hsp26 by weakening domain contacts in the oligomer ensemble. *Nature Communications, 12*(1), 6697. https://doi.org/10.1038/s41467-021-27036-7

Northeast, R. C., Vyazovskiy, V. V., & Bechtold, D. A. (2020). Eat, sleep, repeat: The role of the circadian system in balancing sleep-wake control with metabolic need. *Current Opinion in Physiology*.

Oishi, K., Miyazaki, K., Kadota, K., Kikuno, R., Nagase, T., Atsumi, G.-i., et al. (2003). Genome-wide expression analysis of mouse liver reveals CLOCK-regulated circadian output genes. *The Journal of Biological Chemistry, 278*(42), 41519–41527. https://doi.org/10.1074/jbc.M304564200

Ono, D., Honma, K.-I., & Honma, S. (2021). GABAergic mechanisms in the suprachiasmatic nucleus that influence circadian rhythm. *Journal of Neurochemistry, 157*(1), 31–41. https://doi.org/10.1111/jnc.15012

Paine, S.-J., Gander, P. H., & Travier, N. (2006). The epidemiology of morningness/eveningness: Influence of age, gender, ethnicity, and socioeconomic factors in adults (30–49 years). *Journal of Biological Rhythms, 21*(1), 68–76. https://doi.org/10.1177/0748730405283154

Panda, S., Hogenesch, J. B., & Kay, S. A. (2002). Circadian rhythms from flies to human. *Nature, 417*(6886), 329–335. https://doi.org/10.1038/417329a

Richter, K., Haslbeck, M., & Buchner, J. (2010). The heat shock response: Life on the verge of death. *Molecular Cell, 40*(2), 253–266. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.10.006

Sato, M., Wakamura, T., Morita, T., Okamoto, A., Akashi, M., Matsui, T., & Sato, M. (2017). Effects of bright light exposure during daytime on peripheral clock gene expression in humans. *International Journal of Biometeorology, 61*(6), 1133–1138. https://doi.org/10.1007/s00484-016-1294-9

Say, Y.-H. (2017). The association of insertions/deletions (INDELs) and variable number tandem repeats (VNTRs) with obesity and its related traits and complications. *Journal of Physiological Anthropology, 36*(1), 25. https://doi.org/10.1186/s40101-017-0142-x

Schwanewedel, J. (2006). Vorstellungen zu Gesundheit und Krankheit im Kontext von Genetik und genetischer Diagnostik. *Erkenntnisweg Biologiedidaktik, 5*, 1–15.

Schwanewedel, J., Hößle, C., & Kattmann, U. (2008). Vorstellung zur Rolle der Gene im Bezug auf die Gesundheit und Krankheit des Menschen. In U. Harms & A. Sandmann (Hrsg.), *Lehr-und Lernforschung in der Biologiedidaktik* (Bd. 3, S. 179–195). Studien.

Turco, M., Biscontin, A., Corrias, M., Caccin, L., Bano, M., Chiaromanni, F., … Costa, R. (2017). Diurnal preference, mood and the response to morning light in relation to polymorphisms in the human clock gene PER3. *Scientific Reports, 7*(1), 6967. https://doi.org/10.1038/s41598-017-06769-w

Viola, A. U., Archer, S. N., James, L. M., Groeger, J. A., Lo, J. C. Y., Skene, D. J., … Dijk, D.-J. (2007). PER3 polymorphism predicts sleep structure and waking performance. *Current Biology: CB, 17*(7), 613–618. https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.01.073

Vogel, F., & Fischer, F. (2020). Computerunterstütztes kollaboratives Lernen. In H. Niegemann & A. Weinberger (Hrsg.), *Handbuch Bildungstechnologie* (S. 57–80). Springer Berlin Heidelberg.

Wang, Z., Wu, Y., Li, L., & Su, X.-D. (2013). Intermolecular recognition revealed by the complex structure of human CLOCK-BMAL1 basic helix-loop-helix domains with E-box DNA. *Cell Research, 23*(2), 213–224.

Weinberger, A., Hartmann, C., Kataja, L. J., & Rummel, N. (2020). Computer-unterstützte kooperative Lernszenarien. In H. Niegemann & A. Weinberger (Hrsg.), *Handbuch Bildungstechnologie* (S. 229–246). Springer Berlin Heidelberg.

Yu, X., Liu, H., Klejnot, J., & Lin, C. (2010). The cryptochrome blue light receptors. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists, 8*. https://doi.org/10.1199/tab.0135

Zhang, L., Hirano, A., Hsu, P.-K., Jones, C. R., Sakai, N., Okuro, M., … Fu, Y.-H. (2016). A PERIOD3 variant causes a circadian phenotype and is associated with a seasonal mood trait. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 113*(11), E1536–E1544. https://doi.org/10.1073/pnas.1600039113



Taste Impossible – wie die Zunge uns schützt

Inhaltsverzeichnis

Ergänzende Information Die elektronische Version dieses Kapitels enthält Zusatzmaterial, auf das über folgenden Link zugegriffen werden kann [https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_8]. Die Videos lassen sich durch Anklicken des DOI Links in der Legende einer entsprechenden Abbildung abspielen, oder indem Sie diesen Link mit der SN More Media App scannen.

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_8

8.1 Impuls

Bier, Rosenkohl, Medikamente – bitter schmeckende Substanzen umgeben uns überall. Sie stehen im Fokus der Pharma- und Lebensmittelindustrie, beide haben sie das gleiche Ziel: Ihre Produkte weniger bitter zu machen, damit sie der Kundschaft schmecken (Burger, 2020; Keast & Breslin, 2002).

Geschmack ist eine der frühesten Erfahrungen in unserem Leben und prägt uns bereits ab dem zweiten Schwangerschaftsmonat (Cohen & Vig, 1976). Die Geschmackswahrnehmung ist ein komplexer Sinneseindruck, der sich aus gustatorischen, haptischen, olfaktorischen und visuellen Reizen zusammensetzt (Breitkreutz, 2008). Dabei wird die Wahrnehmung auch vom Gemütszustand und von Erfahrungen geprägt; der tatsächliche gustatorische Anteil macht gerade 20 % des Gesamteindrucks aus (Breitkreutz, 2008; Thiedig, 2005).

Von den fünf möglichen Geschmacksrichtungen sind sauer und bitter unsere Warnhinweise, da beides auf unreife oder giftige Nahrung hindeuten kann (Breitkreutz, 2008). Aufgrund der G-Protein-gekoppelten **Signaltransduktion** bei den Bitterstoff-Rezeptoren ist die Wahrnehmung verzögert, weshalb Nachgeschmäcker häufig bitter sind (Gilbertson et al., 2000). Viele dieser Rezeptoren haben nur ein Substrat und sind damit hochspezifisch (Gilbertson et al., 2000).

Mit diesem Modul geben Sie Ihren Schüler*innen die Möglichkeit, ihre eigene bittere Geschmackswahrnehmung auf der molekularen Ebene zu untersuchen (◘ Abb. 8.1 und ► Abschn. 8.2). Unter ► Abschn. 8.6.3 stellen wir Ihnen für die Einbettung in den Unterricht Gruppenpuzzles als geeignete Unterrichtsmethode für die verschiedenen Aspekte dieses Themenbereichs vor.

Glückstädter Anzeiger

Schmecken ist nicht gleich Schmecken

Wie schmeckt Rosenkohl für Sie?

Glückstadt, 29.03.2017
Als Rosa Pauli ihren drei Kindern zum Mittagessen Rosenkohl zubereitete stellte sie mit Erstaunen fest, dass zwei ihrer Kinder mit Genuss den Rosenkohl aßen, nur Timo (8) verzog das Gesicht und schrie:

„**Das schmeckt viel zu bitter!**“

Rosa Pauli wollte es zunächst nicht glauben, dass sich die Geschmackswahrnehmung ihrer Kinder bei demselben Gericht unterschied. Daraufhin wandte Sie sich an Prof. Bastian von der Universität Glückstadt, einem guten Freund der Familie.
Er leitet dort den Lehrstuhl für Biochemie.

Es ist bekannt, dass Variationen in der DNA des *TAS2R38* Rezeptors beim Menschen zur Beeinflussung der bitteren Geschmackswahrnehmung führen.

So genannte „Single Nucleotide Polymorphisms“ (SNP‘s) sind dabei verantwortlich, ob ein Individuum die Fähigkeit besitzt, PTC-ähnliche Stoffe bitter zu schmecken, oder nicht. Diese Stoffklasse kommt überwiegend in grünen, bitter schmeckenden Gemüsesorte vor.



Abb. 8.1 **Ausschnitt eines thematisch passenden Zeitungsartikels.** Dieser Zeitungsartikel wird Ihnen als didaktisches Begleitmaterial online zu den Versuchen zur Verfügung gestellt (sn.pub/rEt5bJ)

8.2 Durchführung

Es empfiehlt sich, den Versuch in zwei Doppelstunden durchzuführen. Da die PCR bereits etwa 90 Minuten dauert, kann dieser Versuch nicht in einer Doppelstunde durchgeführt werden, sofern er Gegenstand des Unterrichts ist. Im Idealfall kann die PCR durch die Schüler*innen gestartet werden und in der Sammlung oder anderen Vorbereitungsräumen der Biologie bzw. über die Mittagspause ablaufen. Die Durchführung kann nach der PCR unterbrochen werden, weil die PCR-Proben im Kühlschrank lagerbar sind. Sofern die Durchführung als Blockveranstaltung stattfindet, sollten mindestens drei Stunden dafür veranschlagt werden.

In Abb. 8.2 ist die Versuchsübersicht unter Angabe der relevanten Methoden gezeigt. Damit Sie als Lehrkraft einen ersten Eindruck darüber bekommen, wie viel Zeit die praktische Durchführung der einzelnen Teilschritte in Anspruch nimmt, haben wir entsprechende Zeitangaben in die Abbildung integriert. Unsere Einschätzungen der Zeiten können je nach Jahrgangsstufe und praktischem Erfahrungsbereich Ihrer Schüler*innen abweichen.

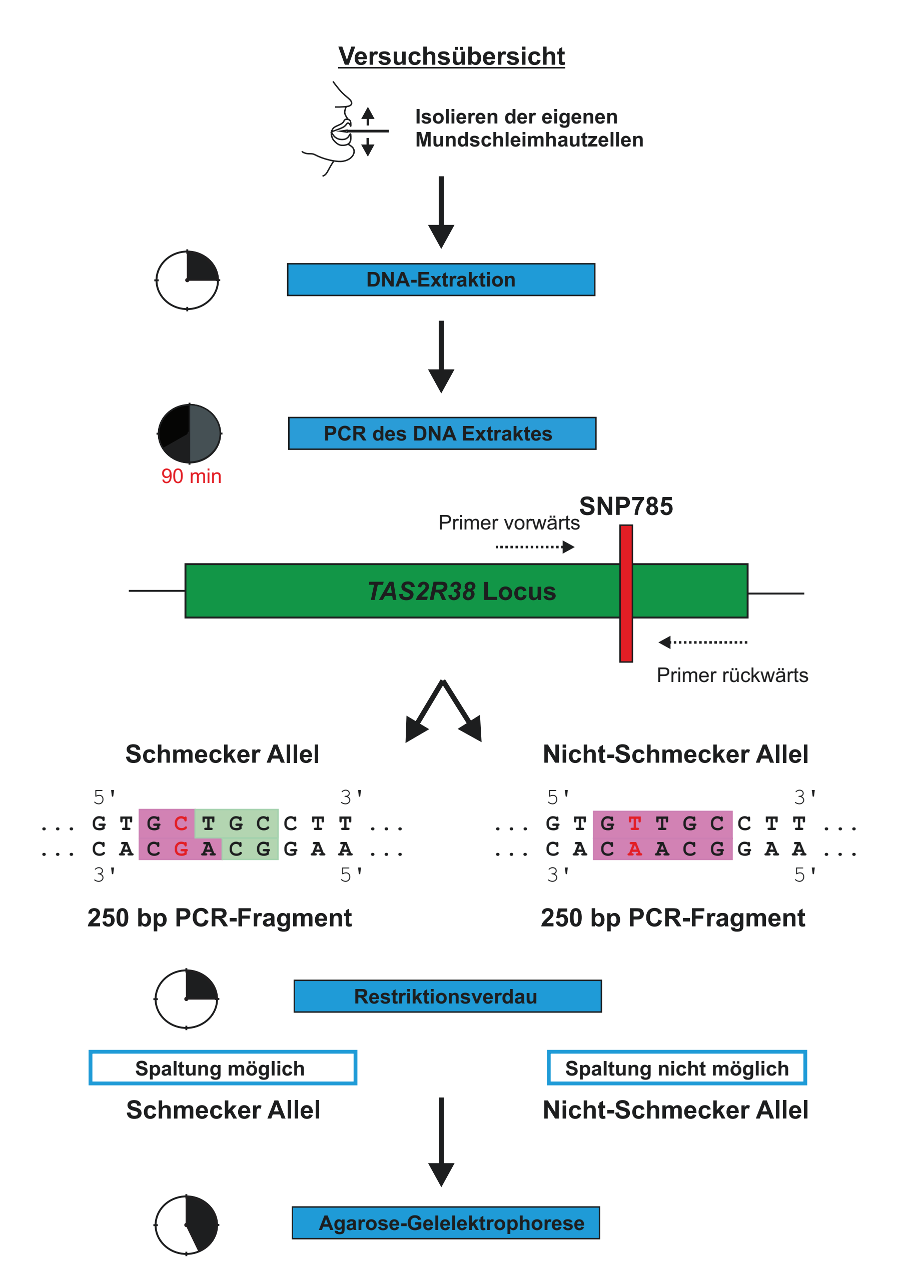
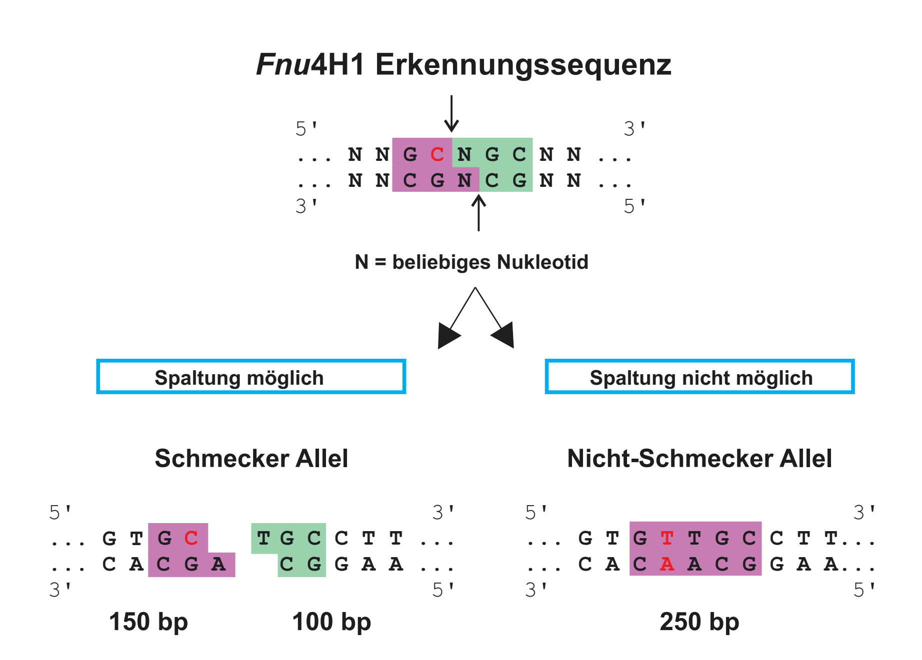


Abb. 8.2 Versuchsübersicht zur Analyse der eigenen bitteren Geschmackswahrnehmung. Die Durchführung des Versuchs ist in zwei Doppelstunden möglich. In der ersten werden zunächst die eigenen Mundschleimhautzellen isoliert, die zur Extraktion Ihrer genomischen DNA genutzt werden. Dieser DNA-Extrakt dient in der PCR als Template zur Amplifikation einer 250 bp Region des *TAS2R38*-Gens. Die Primer binden dabei an die flankierenden Regionen der SNP785 Position. In der zweiten werden die PCR-Konstrukte hinsichtlich des SNP785-Genotyps weiter untersucht. Das Vorhandensein eines *single nucleotide polymorphism* an Position 785 wird mit Hilfe eines Restriktionsverdaus analysiert. Die Identifizierung des Schmecker-Allels oder Nicht-Schmecker-Allels erfolgt abschließend mittels Agarose-Gelelektrophorese. Die wesentlichen Arbeitsschritte sind blau dargestellt

Es ist bekannt, dass drei mögliche *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) (Aminosäure-Position 49, 262, 296) jeweils zu einer Veränderung der bitteren Geschmackswahrnehmung führen. In diesem Modul steht die AS-Position 262 im Fokus. Falls ein SNP vorliegt, ist an entsprechender Position die Aminosäure Alanin durch ein Valin ersetzt. Da der SNP auf Genebene vorliegt, ist er entsprechend an Position 785 der Nukleotidsequenz lokalisiert. Die größere DNA-Position im Vergleich zur Aminosäure-Position ergibt sich aus der Triplettkodierung. Die Schüler*innen bestimmen den Genotyp des SNP785 ihres eigenen *TAS2R38*-Gens (*Taste receptor type 2 member 38*-Gen) (◘ Abb. 8.2). Weitere theoretische Hintergrundinformationen sind in ► Abschn. 8.5 zu finden.

Zur Extraktion und Analyse der DNA isolieren Sie zunächst Ihre eigenen Mundschleimhautzellen. Die gewonnenen Zellen werden dann durch chemische Lyse aufgeschlossen, um so Ihre genomische DNA zu extrahieren. Diese wird in der anschließenden PCR als **Template** zur Amplifikation einer 250 bp Region, welche den SNP785 des *TAS2R38*-Gens beinhaltet, verwendet. Ein Restriktionsverdau ermöglicht dann eine Unterscheidung des Schmecker- und Nicht-Schmecker-Allels. Das Restriktionsenzym *Fnu*4HI kann nur das dominante Schmecker-Allel spalten, wodurch zwei DNA-Fragmente mit ca. 100 bp und ca. 150 bp entstehen (◘ Abb. 8.3). Im Fall des rezessiven Nicht-Schmecker-Allels ist nur eine DNA-Bande bei ca. 250 bp auf dem zugehörigen Agarose-Gel zu erkennen, weil keine Spaltung stattfindet.



◘ **Abb. 8.3** **Erkennungssequenz und Schnittmuster des Restriktionsenzyms *Fnu4HI.*** Im Falle des Schmecker-Allels (ohne SNP) ist eine Spaltung durch das Restriktionsenzym möglich. Im Gegensatz dazu kann die Spaltung beim Nicht-Schmecker-Allel durch *Fnu4HI* nicht erfolgen, weil der vorhandene SNP die Erkennungssequenz des Restriktionsenzyms zerstört

Im Folgenden werden die Durchführungsschritte der einzelnen Methoden im Detail beschrieben.

Tipp

In diesem Versuch kann jede*r Schüler*in seine eigene Probe analysieren. Es empfiehlt sich, ein einheitliches Beschriftungssystem festzulegen, z. B. die Initialen. Das erleichtert den Schüler*innen, ihre eigenen Ansätze aus den Geräten zu holen.

Wichtig

Achten Sie bei der Durchführung auf die allgemeingültigen Prinzipien des sicheren Arbeitens im Labor (sn.pub/rEt5bJ), um Schüler*innen frühzeitig für diese zu sensibilisieren. Es empfiehlt sich, während des gesamten Versuchs Handschuhe zu tragen.

8.2.1 DNA-Extraktion

Zunächst extrahieren Sie Ihre eigene genomische DNA aus Ihren Mundschleimhautzellen (◘ Abb. 8.4).

Wichtig

Vermeiden Sie 20 min vor der DNA-Extraktion das Kauen von Kaugummi oder ähnlichen Menthol-/ Mint-Süßigkeiten, da das Ergebnis dadurch negativ beeinflusst werden kann. Achten Sie darauf, dass Ihr Mundinnenraum sauber ist und keinerlei Essensreste vorhanden sind.

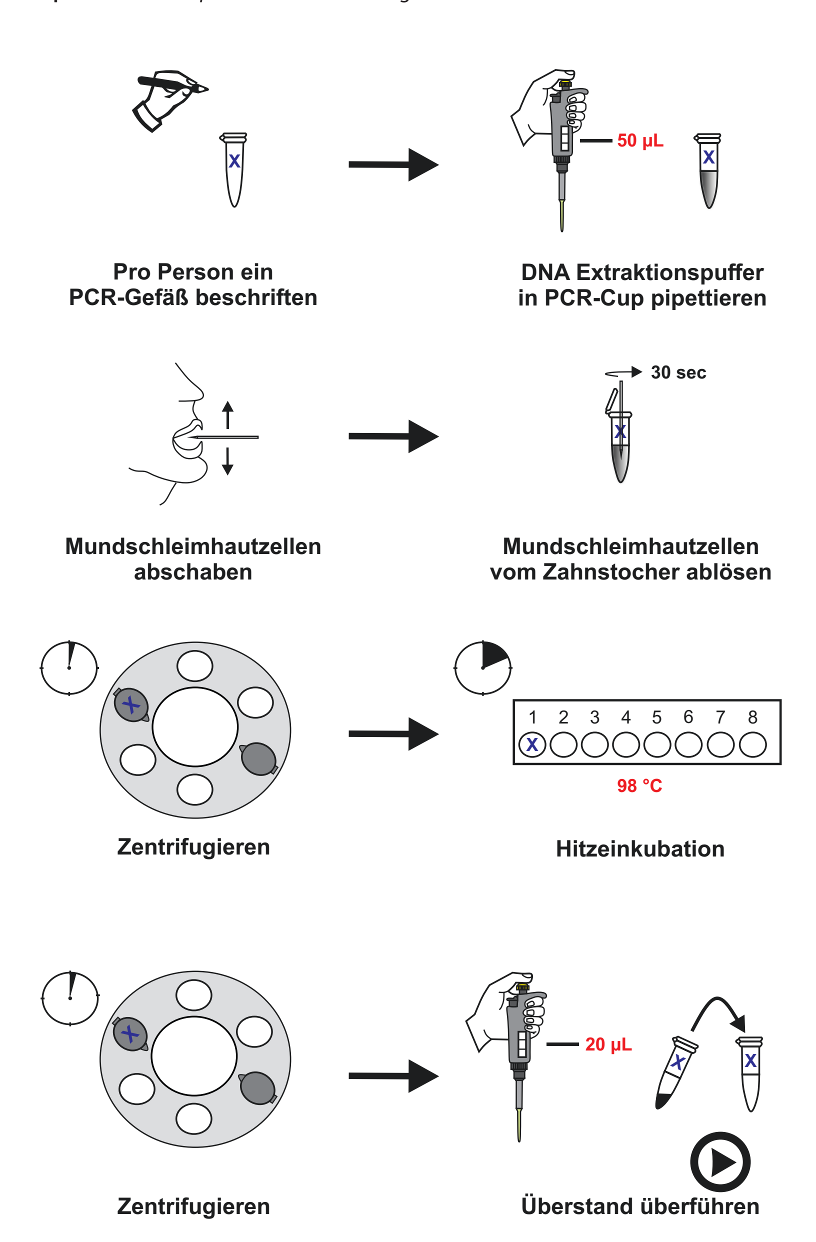
Für die Extraktion stehen Ihnen zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Einerseits kann die Extraktion über eine Mundspülung mit einer 0,9 %-igen Natriumchlorid-Lösung (NaCl) und zweitens die mechanische Extraktion mit einem Zahnstocher durchgeführt werden. Hier wird der Vorgang der mechanischen Extraktion vorgestellt, die Anleitung zur Extraktion mittels NaCl-Lösung finden Sie in ► Abschn. 7.2.1. Pro Person wird ein PCR-Gefäß (200 µL) benötigt. Beschriften Sie dieses mit Ihren Initialen.

Folgendes Reagenz wird in das Reaktionsgefäß pipettiert:

- DNA-Extraktionspuffer: 50 µL

Zur Gewinnung der Zellen schaben Sie mit einem Zahnstocher fünf- bis sechsmal an der Innenseite Ihrer Wange.

Tauchen Sie den Zahnstocher mit der zellbehafteten Seite in die Pufferlösung ihres PCR-Gefäßes ein. Rühren Sie in der Pufferlösung für weitere 30 Sekunden, um so die Zellen abzulösen.



8

Abb. 8.4 DNA-Extraktion aus Mundschleimhautzellen. Durch Verwendung des DNA-Extraktionspuffers ist eine Isolation der eigenen genomischen DNA aus abgeschabten Mundschleimhautzellen möglich. Nach Aufschluss der Mundschleimhautzellen und Zentrifugation kann im letzten Schritt der Überstand, welcher die isolierte DNA beinhaltet, vom **Pellet** getrennt werden (▶ https://doi.org/10.1007/000-6fx)

Wichtig
Wiederholen Sie die Schritte, Zellen abschaben und in Pufferlösung ablösen, mit einem neuen Zahnstocher.

Nach Entfernen des Zahnstochers und Verschließen des PCR-Gefäßes wird dieses kurz zentrifugiert (1 sec).

Wichtig
Achten Sie beim Zentrifugieren darauf, dass die Proben ausbalanciert sind (► Abb. 5.2).

Achten Sie darauf, das PCR-Gefäß richtig zu verschließen, da es sonst im Thermozykler zu einer Verdunstung der Reaktionsflüssigkeit kommen kann. Abschließend werden die Proben in den Thermozykler gestellt und der Deckel verschlossen. Überprüfen Sie, dass das Gerät ausgeschaltet ist.

Wichtig
Zum Arretieren des Deckels ist ein zusätzlicher Drehknauf vorhanden. Dieser ist sehr empfindlich. Drehen Sie nicht weiter, sobald Sie einen kleinen Widerstand spüren, sonst bricht der Drehknauf ab.

Die Proben werden dann 10 min bei 95 °C im PCR Gerät inkubiert. Führen Sie den Hitze-Inkubationsschritt mit dem Programm *heat block* durch. Nach Auswahl des Programms klicken Sie auf *upload*. Der Name Ihres Thermozyklers erscheint in einem Pop-Up Fenster. Da Ihr Gerät noch ausgeschaltet ist, wird oben links in Ihrem Versuchsfenster *no power* angezeigt. Schalten Sie Ihr Gerät jetzt ein. Die Inkubation kann am Monitor jetzt in Echtzeit verfolgt werden. Entnehmen Sie die PCR-Gefäße und kühlen Sie diese bei Raumtemperatur kurz ab (ca. 1 min).

Tipp

Um die Wartezeit optimal auszunutzen, können Sie bereits während des Inkubationsschritts mit der Vorbereitung der PCR-Reaktionen beginnen.

Zentrifugieren Sie dann Ihr PCR-Gefäß mit dem enthaltenen DNA-Extrakt für 90 sec. Überführen Sie den Überstand in ein frisches PCR-Gefäß.

Wichtig
Die genomische DNA liegt nach diesem Schritt im Überstand vor. Das Pellet besteht nur aus den Zelltrümmern. Der Überstand wird weiterverwendet und das Zellpellet wird verworfen! Vermeiden Sie das Berühren des Zellpellets mit der Pipettenspitze! Eine Lagerung des DNA-Extrakts ist nicht möglich, daher muss die Probe sofort weiterverwendet werden. Die sorgfältige Durchführung des Extraktionsschritts beeinflusst wesentlich die anschließenden Methoden und den Gesamterfolg des Versuchs. Lassen Sie sich daher für diesen Schritt am meisten Zeit, um ein möglichst aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten.

8.2.2 PCR

Mit dem genomischen DNA-Extrakt wird im Anschluss eine PCR durchgeführt (◘ Abb. 8.5).

Jede*r Schüler*in bereitet ein weiteres PCR-Gefäß vor.

Folgende Reagenzien werden in das frische PCR-Gefäß pipettiert:

EZ PCR Master Mix ™	15 µL
PTC Primer Mix ™	10 µL
DNA-Extrakt	5 µL
Gesamt	30 µL

Wichtig
Sorgfältiges Pipettieren beeinflusst den Erfolg des Versuchsergebnisses.

Wichtig
Sobald ein neues Reagenz pipettiert wird, muss die Pipettenspitze gewechselt werden.

Tipp

Werden mehrere Reagenzien in einen Ansatz pipettiert, empfiehlt sich, mit dem größten Volumen zu beginnen. Pipettieren Sie DNA-Proben immer zum Schluss.

Das Gesamtvolumen jedes Ansatzes beträgt 30 µL. Mischen Sie die Reagenzien durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren. Achten Sie darauf, die PCR-Gefäße richtig zu verschließen, da es sonst im Thermozykler zu einer Verdunstung der Reaktionsflüssigkeit kommen kann.

Die vorbereiteten PCR-Proben werden dann kurz zentrifugiert, ca. 3 Sekunden.

Wichtig
Achten Sie darauf, dass die Zentrifugen von den Schülern*innen korrekt beladen werden. Nur dann kann eine sichere Benutzung gewährleistet werden. (► Abschn. 5.5).

Abschließend werden die PCR-Proben in den Thermozykler gestellt und der Deckel verschlossen. Überprüfen Sie, dass das Gerät ausgeschaltet ist.

Wichtig
Zum Arretieren des Deckels ist ein zusätzlicher Drehknauf vorhanden. Dieser ist sehr empfindlich. Drehen Sie nicht weiter, sobald Sie einen kleinen Widerstand spüren, sonst bricht der Drehknauf ab.

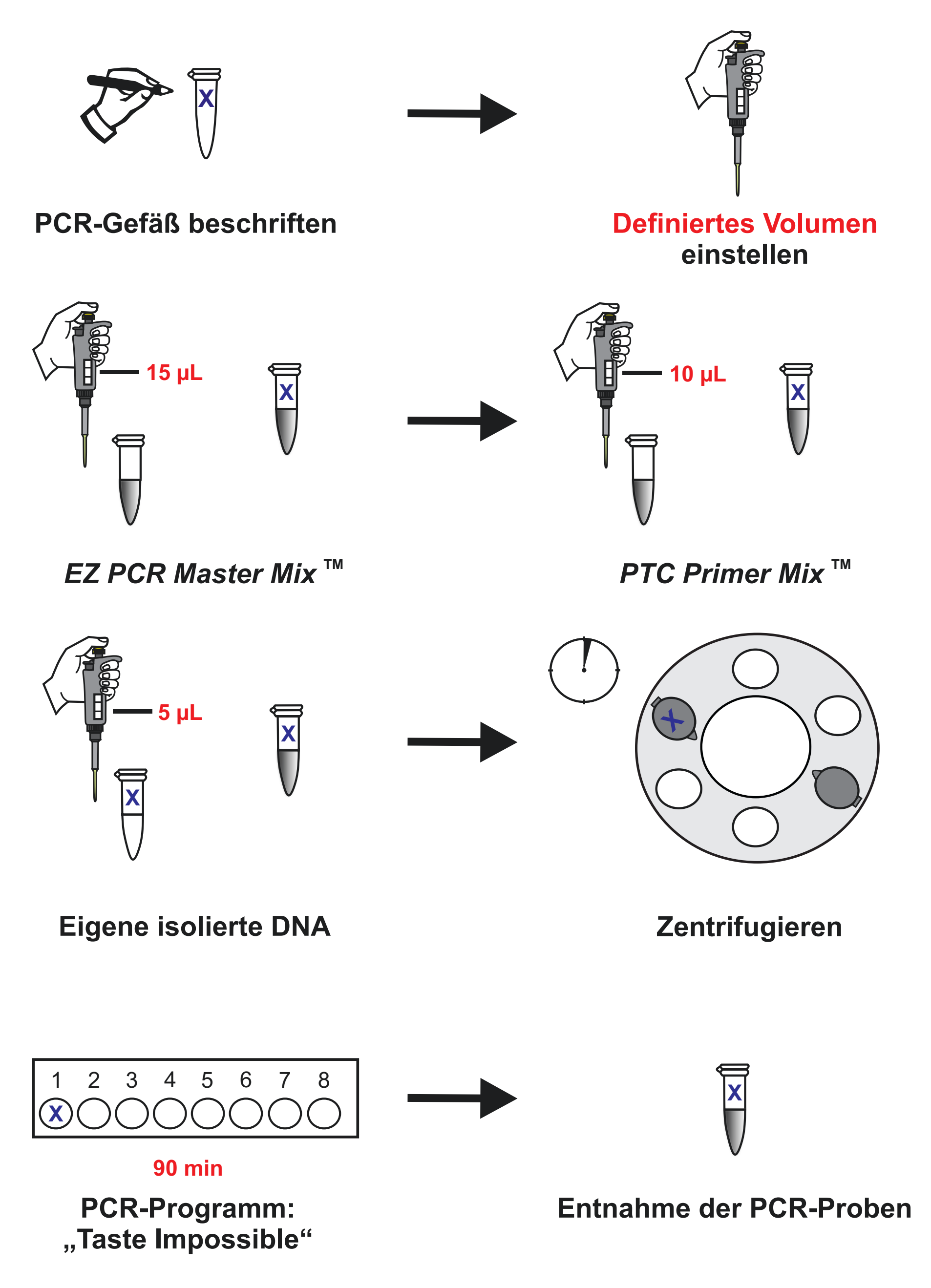


Abb. 8.5 **Durchführung der PCR mit eigenem DNA-Extrakt.** Pro Ansatz werden 15 µL *EZ PCR Master Mix*™ und 10 µL *PTC Primer Mix*™ in ein PCR-Gefäß pipettiert. Zuletzt werden 5 µL des isolierten eigenen DNA-Extrakts zugegeben. Nach kurzer Zentrifugation der Proben wird die PCR durch Auswahl des *Taste Impossible*-Protokolls gestartet. Die PCR-Produkte können weiterverwendet oder im Kühlschrank gelagert werden

Für die PCR wird das bereits gespeicherte *Taste Impossible*-Protokoll verwendet (▶ Abschn. 5.3).

Nach Auswahl des Programms klicken Sie auf *upload*. Der Name Ihres PCR-Geräts erscheint in einem Pop-Up-Fenster.

Die Parameter des PCR-Programms sind in ◘ Tab. 8.1 gezeigt, diese können Sie vorab speichern.

Da Ihr Gerät ausgeschaltet ist, wird oben links in Ihrem Versuchsfenster *no power* angezeigt. Schalten Sie Ihr Gerät jetzt ein. Die Thermozykler merken sich das zuletzt genutzte Programm. Durch das Anschalten des Geräts nach *upload* des Programms stellen Sie sicher, dass der Thermozykler kein anderes Programm startet.

Die PCR-Reaktion kann am Monitor in Echtzeit verfolgt werden.

Tipp

Während die PCR-Reaktion läuft, können die Agarose-Gele vorbereitet werden.

Die Dauer der 30 Zyklen beträgt 33 min (65 sec pro Zyklus, ◘ Tab. 8.1). Unter Berücksichtigung der *initial denaturation*, den Temperaturänderungen zwischen den Schritten sowie der *final extension* ist die PCR nach etwa 90 min abgeschlossen. Dies wird durch einen Klingelton angezeigt, auf dem Display erscheint *status completed*. Die PCR-Gefäße können jetzt aus dem Gerät entfernt werden.

Vorsicht:
Der Metalldeckel kann noch heiß sein.

Die Proben können nun direkt weiterverwendet oder im Kühlschrank gelagert werden.

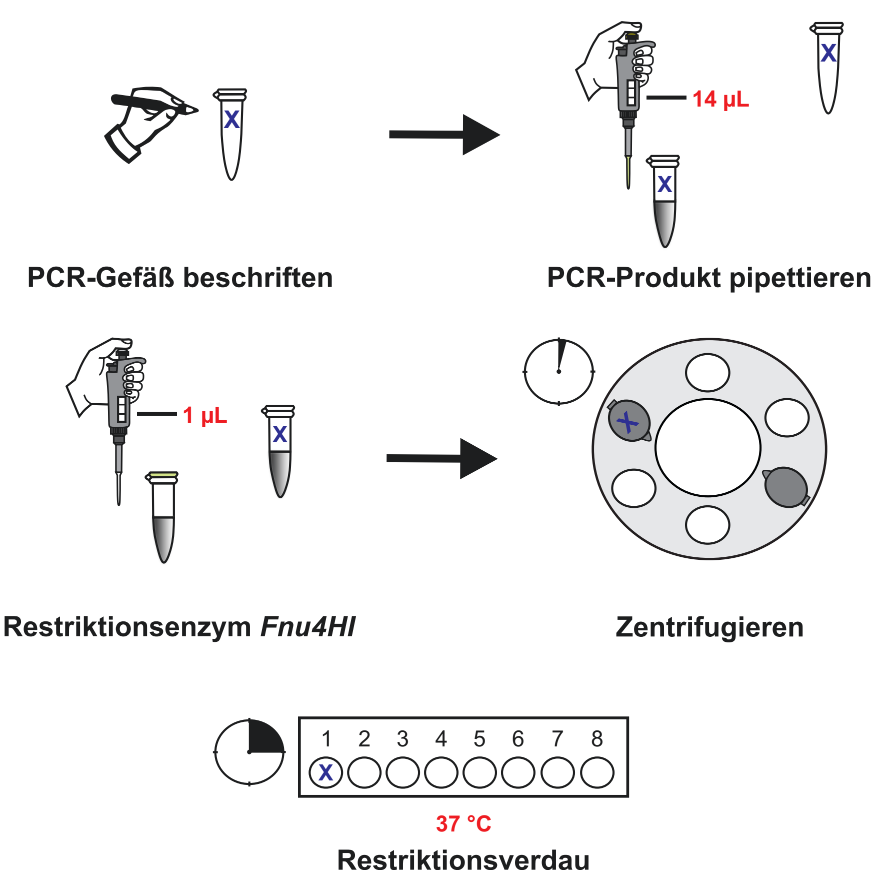
◘ **Tab. 8.1** **Einstellungen des PCR-Programms für *Taste Impossible*.** Die mit * markierten Schritte geben einen PCR-Zyklus an. Die Gesamtanzahl der Zyklen ist unter *number of cycles* angegeben

PCR-Programm	**Temperatur [°C]**	**Zeit [s]**
initial denaturation	94	120
denaturation *	94	10
annealing *	58	15
extension *	72	40
final extension	72	5
heated lid	ON	
number of cycles	30	

8.2.3 Enzymatischer Restriktionsverdau

Mit den PCR-Proben wird ein Restriktionsverdau mit der Restriktionsenzym *Fnu4HI* durchgeführt (◘ Abb. 8.6). Die Erkennungssequenz von *Fnu4HI* ist in ◘ Abb. 8.3 gezeigt.

Wichtig
Eine Lagerung der verdauten Proben ist nicht möglich. Daher werden die verdauten PCR-Produkte anschließend sofort mittels Agarose-Gelelektrophorese analysiert.



◘ **Abb. 8.6** **Restriktionsverdau mit dem Restriktionsenzym *Fnu4HI*.** Pro Ansatz werden je 14 µL PCR-Produkt mit 1,0 µL des Restriktionsenzyms *Fnu4HI* versetzt. Die Proben werden durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren gut durchmischt. Nach kurzer Zentrifugation der Ansätze wird der Restriktionsverdau für 15 min bei 37 °C durchgeführt

Jede*r Schüler*in bereitet ein weiteres PCR-Gefäß vor. Folgende Reagenzien werden in das frische PCR-Gefäß pipettiert:

PCR-Produkt	14 µL
Restriktionsenzym *Fnu4HI*	1,0 µL
Gesamt	15 µL

Wichtig
Um das Ergebnis nicht negativ zu beeinflussen, achten Sie darauf, dass Sie beim Pipettieren des Restriktionsenzyms besonders sorgfältig arbeiten. Mischen Sie die Proben sorgfältig durch Auf- und Abpipettieren, dadurch wird die Restriktionseffizienz erhöht

Zentrifugieren Sie die Proben kurz für ca. 5 Sekunden. Abschließend werden die PCR-Proben in den Thermozykler gestellt und der Deckel verschlossen. Überprüfen Sie, dass das Gerät ausgeschaltet ist.

Wichtig
Zum Arretieren des Deckels ist ein zusätzlicher Drehknauf vorhanden. Dieser ist sehr empfindlich. Drehen Sie nicht weiter, sobald Sie einen kleinen Widerstand spüren, sonst bricht der Drehknauf ab.

Die Proben werden dann für 15 min bei 37 °C im PCR-Gerät inkubiert. Führen Sie den Inkubationsschritt mit dem Programm *heat block* durch. Nach Auswahl des Programms klicken Sie auf *upload*. Der Name Ihres Thermozyklers erscheint in einem Pop-Up Fenster. Da Ihr Gerät noch ausgeschaltet ist, wird oben links in Ihrem Versuchsfenster *no power* angezeigt. Schalten Sie Ihr Gerät jetzt ein. Die Inkubation kann am Monitor in Echtzeit verfolgt werden.

Tipp

Um die Zeit optimal zu nutzen, können jetzt die Agarose-Gele vorbereitet werden, falls dies nicht schon während der PCR geschehen ist.

Die Analyse des Restriktionsverdaus erfolgt mittels Agarose-Gelelektrophorese.

8.2.4 Agarose-Gel-Herstellung

Als nächstes erfolgt die Herstellung eines 2,0 %-igen Agarose-Gels (◘ Abb. 8.7).

Es bietet sich an, die Agarose-Gele während der Durchführung der PCR zu gießen, um die Zeit optimal auszunutzen (s.o.). In diesem Versuch kann auch die mögliche Lagerung der Gele relevant werden, sofern der Restriktionsverdau und die Agarose-Gelelektrophorese erst am Folgetag durchgeführt werden sollen.

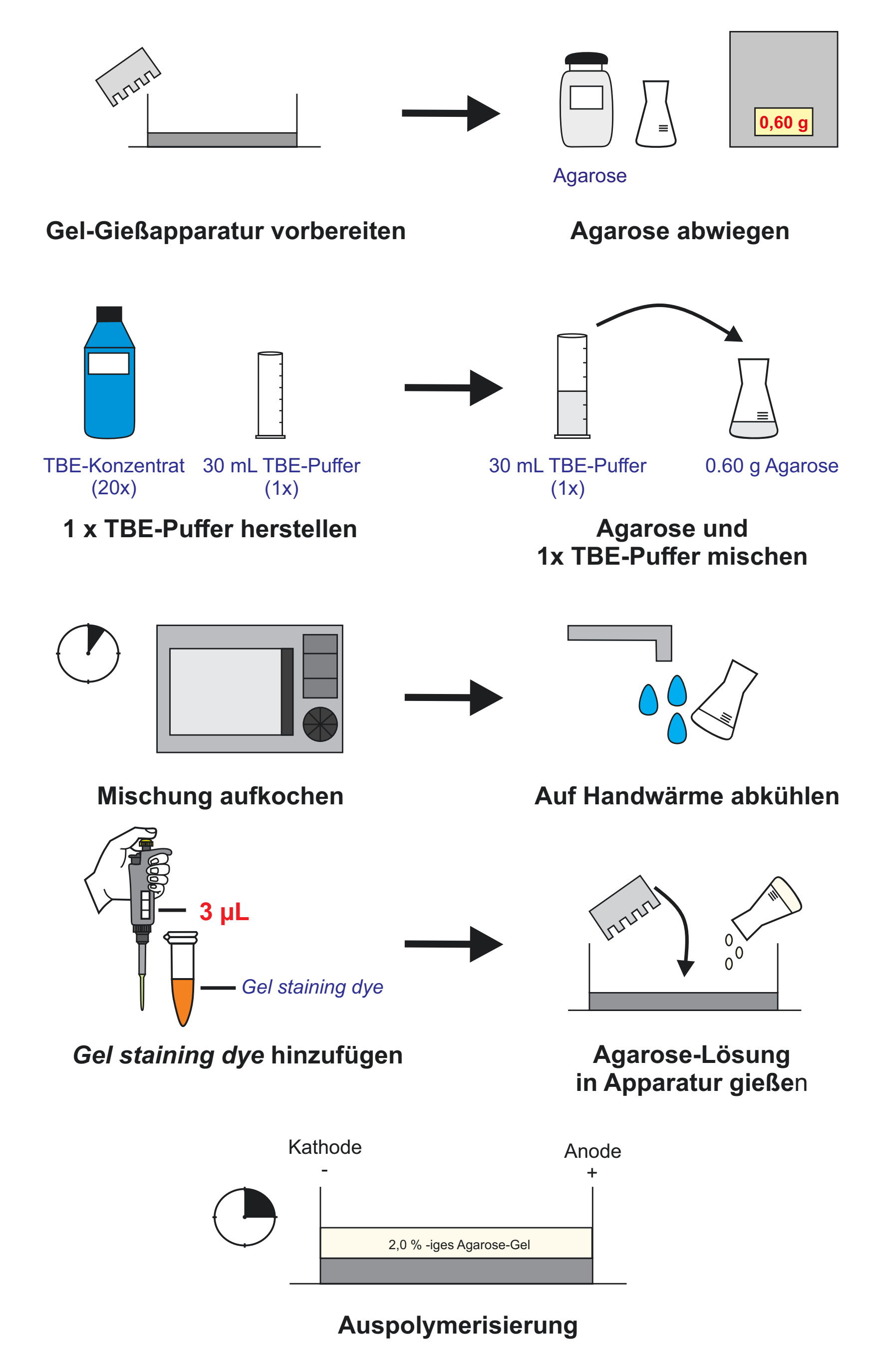


Abb. 8.7 Herstellung von Agarose-Gelen für die Gelelektrophorese. Für *Taste Impossible* werden 2,0 %-ige Agarose-Gele benötigt. Dafür werden 30,00 mL 1x TBE-Puffer mit 0,6 g Agarose versetzt. Durch kurzes Aufkochen entsteht eine homogene, klare Lösung, welche nach Abkühlen auf Handtemperatur mit 3 µL *gel staining dye* versetzt wird. Die Agarose-Lösung wird in die Gel-Gießapparatur überführt und der Probenkamm in die Halterung gesteckt. Die Verfestigung dauert etwa 15 Minuten

Tipp

Agarose-Gele können bis zu einem Tag im Kühlschrank gelagert werden. Wickeln Sie diese dafür erst in Frischhaltefolie und dann in Alufolie ein. Damit schützen Sie die Gele vor dem Austrocknen und den enthaltenen Farbstoff vor Schädigung durch Lichtstrahlung.

Tipp

In diesem Versuch können acht Schüler*innen ihre Proben auf ein Gel auftragen. Zusätzlich wird pro Agarose-Gel ein DNA-Größenstandard aufgetragen.

Bereiten Sie eine saubere und trockene Gel-Gießapparatur vor und legen Sie einen Probenkamm bereit (► Abschn. 5.4).

Agarose	0,6 g
1x TBE-Puffer	30 mL
gel staining dye	3,0 µL

Wichtig

gel staining dye erst nach dem Abkühlen hinzugeben. Pro 10,0 mL Agarose-Lösung wird 1,00 µL *gel staining dye* benötigt.

Die Mischung wird zum Lösen der Agarose kurz in der Mikrowelle aufgekocht. Eine klare Lösung zeigt ein vollständiges Lösen der Agarose an. Um einen Siedeverzug zu vermeiden, kann der Vorgang in der Mikrowelle unterbrochen und der Erlenmeyerkolben mehrmals geschwenkt werden. Kühlen Sie die homogene Mischung unter fließendem Wasser bis zur Handwärme ab. Die Lösung wird dann in die Gel-Gießapparatur überführt. Stecken Sie den Probenkamm in die vorgesehene Halterung.

Tipp

Kleine Luftblasen im Gel können mit einer Pipettenspitze entfernt werden.

Nach 15–20 min ist das Gel verfestigt. Entfernen Sie den Probenkamm vorsichtig. Die Agarose-Gele können direkt für die Elektrophorese verwendet werden.

Tipp

Agarose-Gele können bis zu einem Tag im Kühlschrank gelagert werden. Wickeln Sie diese dafür erst in Frischhaltefolie und dann in Alufolie ein. Damit schützen Sie die Gele vor dem Austrocknen und den enthaltenen Farbstoff vor Schädigung durch Lichtstrahlung.

8.2.5 Agarose-Gelelektrophorese

Der letzte Schritt des Versuchs ist die Analyse der verdauten PCR-Proben mittels Agarose-Gelelektrophorese (◘ Abb. 8.8). Die Agarose-Gele können im Schlitten in die Elektrophoresekammern überführt werden.

1x TBE-Puffer zum Überschichten	35 mL
Pro DNA-Probe	12 µL
DNA-Größenstandard	12 µL

Wichtig
Vor dem Auftragen der Proben werden die Agarose-Gele jeweils mit 30 mL 1x TBE-Puffer überschichtet. Nutzen Sie nie mehr als 35 mL 1x TBE-Puffer zum Überschichten der Gele in der Elektrophoresekammer, da der Puffer sonst überläuft.

Wichtig
Pro Agarose-Gel können acht PCR-Proben und ein DNA-Größenstandard aufgetragen werden. Es empfiehlt sich, den DNA-Größenstandard mittig auf das Agarose-Gel aufzutragen.

Wichtig
Berühren Sie mit Ihrer Pipettenspitze dabei nicht den Boden der Probenkammer, da diese sonst beschädigt wird (► Abschn. 5.4.2).

Wichtig
Notieren Sie sich die Reihenfolge, in der Sie die Proben aufgetragen haben.

Verschließen Sie die Elektrophoresekammer. Drücken Sie den *run*-Knopf und führen Sie die Elektrophorese für 30–45 min durch.

Achten Sie darauf, dass die Banden des DNA-Größenstandards im Bereich 100–300 bp gut aufgelöst, d. h. gut voneinander getrennt, sind.

Nach ca. 30–45 min ist die Gelelektrophorese abgeschlossen. Das Gerät kann jetzt ausgeschaltet werden.

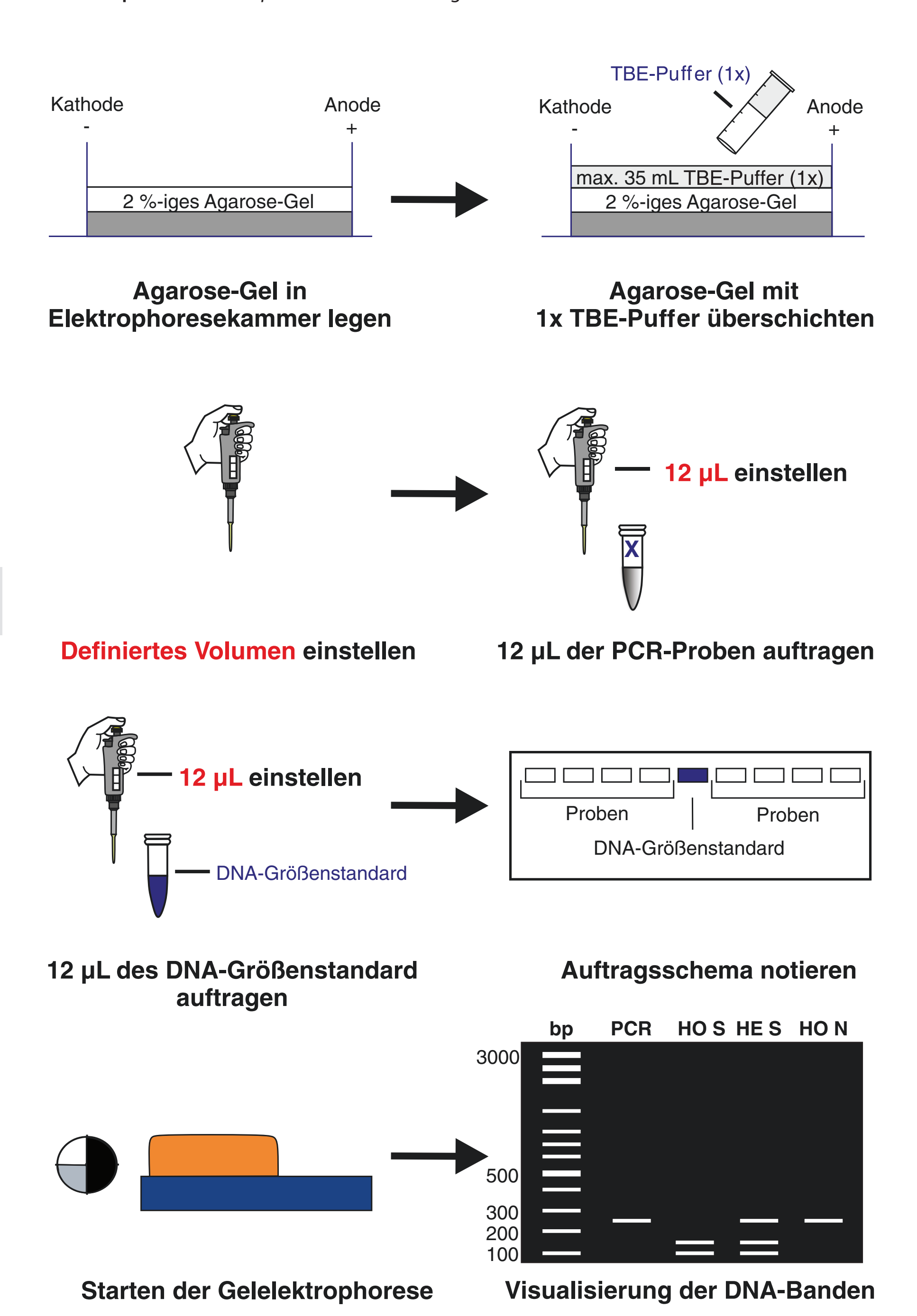


Abb. 8.8 Durchführung der Agarose-Gelelektrophorese. Die Agarose-Gele werden in die Elektrophoresekammern überführt und dort mit 1x TBE-Puffer überschichtet, bevor die PCR-Proben aufgetragen werden. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe eines DNA-Größenstandards. Bp = DNA-Größenstandard 100 bp, PCR = PCR-Produkt, HO S = Homozygoter Schmecker, HE S= Heterozygoter Schmecker, HO N= Homozygoter Nicht-Schmecker

Tipp

Die Auftrennung der DNA-Proben kann durch Betätigung des *illuminator*-Knopfs auf dem Gerät in Ist-Zeit verfolgt werden. Wird das Licht zu häufig während der Auftrennung angeschaltet oder dauerhaft angelassen, kann das zum Ausbleichen der Proben führen.

Drücken Sie nach Beendigung der Elektrophorese den *illuminator*-Knopf und dokumentieren Sie Ihr Ergebnis. Die Agarose-Gele können direkt mit dem Smartphone fotografiert werden.

8.3 Ergebnisinterpretation

In diesem letzten Schritt können die DNA-Banden auf dem Agarose-Gel analysiert werden. Je kleiner die DNA-Fragmente sind, desto schneller wandern sie im Agarose-Gel nach unten. Große DNA-Fragmente werden durch die Agarose-Matrix stärker zurückgehalten und sind nach der Gelelektrophorese demnach weiter oben im Agarose-Gel zu finden (► Abschn. 3.2). Durch den Vergleich der DNA-Fragmente mit den jeweiligen definierten Banden des DNA-Größenstandards ist eine Abschätzung der Basenpaarlänge dieser Fragmente möglich. Der Vergleich der Laufweiten der eigenen DNA-Probe mit dem erwarteten Bandenmuster ermöglicht eine Interpretation des Ergebnisses. Nicht verdaute PCR-Proben (PCR-Produkt) des Schmecker- und Nicht-Schmecker-Allels sind im Agarose-Gel als einzelne Bande bei ca. 250 bp erkennbar (◘ Abb. 8.9). Nach dem Restriktionsverdau sind folgende Ergebnisse zu erwarten: Für das Nicht-Schmecker-Allel tritt eine Bande bei ca. 250 bp auf, weil der vorhandene SNP785 die Erkennungssequenz des Restriktionsenzyms *Fnu4HI* zerstört und so eine Spaltung nicht möglich ist (◘ Abb. 8.3). Bitterstoffe können in diesem Fall nicht wahrgenommen werden. Beim Schmecker-Allel können zwei Fragmente auf dem Gel bei ca. 150 bp und ca. 100 bp identifiziert werden, da kein SNP vorliegt und folglich die intakte Erkennungssequenz eine Spaltung durch das Restriktionsenzym *Fnu4HI* ermöglicht. Folgenden Varianten können aus den Versuchsergebnissen für den Genotyp und Phänotyp des bitteren Schmeckens abgeleitet werden (◘ Tab. 8.2).

Wichtig
Ein heterozygoter Schmecker kann nur bei einem vollständig abgelaufenen Restriktionsverdau identifiziert werden. Ein unvollständiger Verdau würde das eigentliche Vorliegen eines homozygoten Schmeckers verfälschen.

! Der Erfolg des Versuchs kann maßgeblich durch Vermeiden einiger Fehler gesteigert werden. In Kapitel (► Kap. 5) sind jeweils zu den spezifischen Methoden Tabellen zu finden, die auf mögliche Probleme und Fehlerquellen hinweisen.

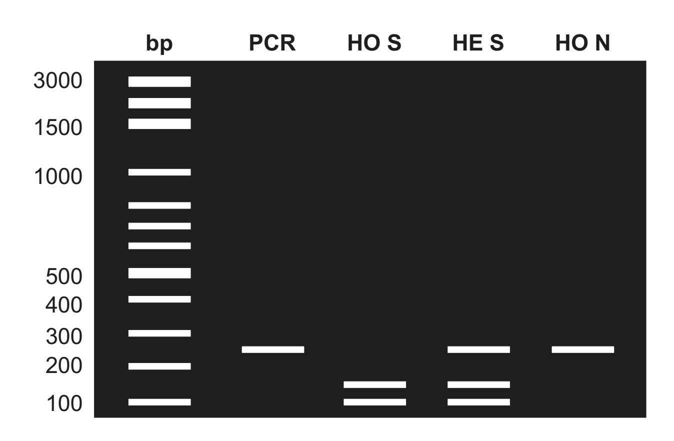


Abb. 8.9 Schematische Darstellung des 2 %-igen Agarose-Gels. Das unverdaute PCR-Produkt (unabhängig vom Genotyp), der Vergleich der DNA-Fragmente des Schmecker- und Nicht-Schmecker-Allels nach dem Restriktionsverdau sowie deren Mischtyp ist gezeigt. Bp = DNA-Größenstandard 100 bp, PCR = PCR-Produkt, HO S= Homozygoter Schmecker, HE S= Heterozygoter Schmecker, HO N= Homozygoter Nicht-Schmecker

Tab. 8.2 Interpretation des Versuchsergebnisses auf der Ebene des Genotyps und Phänotyps

Versuchsergebnis	**Genotyp**	**Phänotyp**
PCR-Produkt (250 bp)	Unbekannt (eine Hypothese kann anhand des Phänotyps individuell abgeleitet werden und erst auf der Basis des Restriktionsverdaus verifiziert oder falsifiziert werden)	Selbstbericht einer Testperson
Produkte des Restriktionsverdaus		
2 Banden (150 bp, 100 bp)	TT (homozygot)	Schmecker: Nimmt bitteren Geschmack stark wahr
3 Banden (250 bp, 150 bp, 100 bp)	Tt (heterozygot)	Moderater Schmecker: Nimmt bitteren Geschmack moderat wahr
1 Bande (250 bp)	tt (homozygot)	Nicht-Schmecker: Nimmt bitteren Geschmack nicht wahr

8.4 Checkliste

Im Folgenden finden Sie eine Auflistung aller notwendiger Reagenzien und Lösungen, sowie Hinweise zu deren Herstellung.

Für einen reibungsfreien Ablauf der praktischen Einheit in Ihrem Unterricht können Sie mehrere Vorbereitungen vornehmen. Genauere Informationen dazu entnehmen Sie bitte ► Kap. 5. Diese sind für ► Kap. 6, 7, 8 und 9 identisch.

Die Angaben und Empfehlungen in diesem Kapitel werden häufig in Gruppen angegeben. Dabei entspricht eine Gruppe zwei Schüler*innen. Sie sind darauf ausgerichtet, den Versuch pro Person einmal vollständig durchzuführen. Sie können individuell entscheiden, mit welcher Gruppenstärke Sie die Versuche durchführen wollen. Obwohl alle Schüler*innen mit ihrer eigenen Probe arbeiten, empfiehlt es sich, mindestens Zweier-Gruppen einzuteilen. Dadurch kann an Geräten gespart werden und eventuell verringern Teams die Fehlerrate.

8.4.1 Reagenzien

- *DPX™ DNA extraction buffer* (miniPCR™, USA)
- *EZ PCR Master Mix™ (2x), Load Ready™* (miniPCR™, USA): PCR-Puffer, Mg^{2+} Ionen, *Taq*-DNA-Polymerase, dNTPs (Deoxynukleosidtriphosphate), DNA-Auftragspuffer, 2x konzentriert
- *PTC Primer Mix, Load Ready™* (miniPCR™, USA): $Primer_{vorwärts}$, $Primer_{rückwärts}$
  Restriktionsenzym: *Fnu4HI* (miniPCR™, USA)

In ◘ Tab. 8.3 finden Sie Angaben, wie Sie die Reagenzien an eine Gruppe ausgeben können. Für den Restriktionsverdau wird zusätzlich das Restriktionsenzym benötigt. Dieses wird nicht aliquotiert, da sonst zu große Verluste entstehen. Falls die Extraktion der genomischen DNA nicht mit einem Zahnstocher erfolgt, wird alternativ noch 0,9 %-ige NaCl-Lösung benötigt (► Abschn. 7.2.1).

◘ **Tab. 8.3 Angabe über Volumina der Reagenzien zur Ausgabe an eine Gruppe**

Reagenz	Aliquot	Volumen [µL]
DPX™ DNA extraction buffer	1	110
EZ PCR Master Mix™	1	35
PTC Primer Mix™	1	25

Tab. 8.4 Herstellung von 1x TBE-Puffer unterschiedlicher Volumina

Reagenz	Volumen Konzentrat [mL]	Volumen dest. Wasser [mL]
TBE 10x konzentriert	10	90
TBE 20x konzentriert	5	95
TBE 10x konzentriert	100	900
TBE 20x konzentriert	50	950
Alternativ kann auch TAE-Puffer verwendet werden.		

8.4.2 TBE-Puffer

Für die Agarose-Gel Herstellung und die Agarose-Gelelektrophorese müssen Sie 1x TBE-Puffer herstellen. Tab. 8.4 zeigt, wie Sie abhängig von dem Konzentrat 1x TBE-Puffer herstellen. Bei der Herstellung wird destilliertes Wasser verwendet.

8

Wichtig
Pro Agarose-Gel werden 30 mL 1x TBE-Puffer benötigt. Für die Agarose-Gelelektrophorese werden weitere 30 mL 1x TBE als Laufpuffer verwendet. Hierzu wird jedes Agarose-Gel vor dem Auftragen der Proben mit 30 mL 1x TBE-Puffer überschichtet.

Entsprechend ist die benötigte Menge an 1x TBE-Puffer direkt von der Menge benötigter Gele abhängig. Wie Sie bei der Berechnung vorgehen und nähere Informationen zur individuell benötigten Menge an 1x TBE-Puffer finden Sie unter ► Abschn. 8.2.4.

Wichtig
Der 1x TBE-Puffer kann bei Raumtemperatur gelagert werden. Eine Verwendung ist so lange möglich, wie keine Flocken in der Lösung erkennbar sind.

8.4.3 Agarose-Gel-Herstellung

Für die Herstellung der Agarose-Gele können Sie sich an Tab. 8.5 orientieren.

- Agarose für DNA-Elektrophorese (SERVA, Deutschland)
- TBE-Puffer (SERVA, Deutschland): Tris, EDTA-Na_2- Salz, Borsäure
- DNA-Stain GelGreen® *nucleic acid gel stain* (miniPCR™, USA): 10,000x in Wasser
- DNA-Größenstandard (miniPCR™, USA): 12 Banden im Bereich von 100–3000 bp

Alternativ kann TAE-Puffer (Tris, EDTA-Na_2- Salz, Essigsäure; SERVA, Deutschland) verwendet werden.

Tab. 8.5 Angaben zur Herstellung eines 2,0 %-igen Agarose-Gels

Konzentration [%]	Agarose [g]	TBE-Puffer (1x) [mL]	DNA-Stain [µL]*
2,0	0,60	30	3

*Der DNA Stain wird im Verhältnis 1:10.000 zum verwendeten Puffer eingesetzt

Tipp

Für den schulischen Gebrauch empfiehlt sich, TBE-Puffer zu verwenden:
- Die vollständige Verfestigung des Agarose-Gels verläuft im Vergleich zur Verwendung von TAE-Puffer schneller.
- Agarose-Gele mit TBE-Puffer sind bei der Handhabung weniger empfindlich.

Wichtig
Achten Sie darauf, dass sich die Agarose für die DNA-Analyse mittels Elektrophorese eignet.

Wichtig
Tragen Sie Handschuhe bei der Herstellung und Beladung der Agarose-Gele.

Bei diesem Versuch können pro Gel acht Proben und ein DNA-Größenstandard aufgetragen werden. Entsprechend können sich acht Schüler*innen ein Gel teilen. Es empfiehlt sich, den DNA-Größenstandard mittig auf das Agarose-Gel aufzutragen. Die Anzahl der benötigten Agarose-Gele berechnet sich wie folgt:

$$Anzahl\ Gele = \frac{Gesamtanzahl\ Proben}{8} \quad (8.1)$$

Beispielrechnung:
Bei einer Klasse mit 24 Schüler*innen werden demnach 3 Gele benötigt.
Die nötige Menge an TBE-Puffer (1x konzentriert) in mL lässt sich wie folgt berechnen:

$$TBE_{Puffer} = (Anzahl\ Gele \times 60\,mL) + 60\,mL \quad (8.2)$$

Bei drei Gelen benötigen Sie demnach 240 mL einer einfach konzentrierten TBE-Puffer Lösung. In dieser Angabe ist die Menge an TBE-Puffer für das Gießen der sechs Agarose-Gele sowie für die Verwendung als Laufpuffer in der Agarose-Gelelektrophorese einkalkuliert. Zudem werden bei dieser Berechnung zwei Fehlversuche bei der Agarose-Gel-Herstellung mitberücksichtigt. Anhand der Beispielrechnung würden Sie sich 300 mL 1x TBE-Puffer herstellen. Ausgehend von einem 10x TBE-Konzentrat würden Sie für die Herstellung 30 mL 10x TBE-Konzentrat mit 270 mL destilliertem Wasser versetzten, um so Ihren 1x TBE-Puffer zu erhalten. Der Rechenweg ist nachfolgend dargestellt. Zur Herstellung des 1x TBE-Puffers lässt sich die benötigte Menge an TBE-Konzentrat in mL wie folgt berechnen:

$$Menge\ TBE_{Konzentrat}\ mL = \frac{Gesamtvolumen\ 1x\ TBE - Puffer\ mL}{Faktor\ des\ Konzentrats} \quad (8.3)$$

Für unser Beispiel ergeben sich so:

$$Menge\ 10x\ TBE_{Konzentrat}\ mL = \frac{300\ mL}{10} = 30\ mL \quad (8.4)$$

Die Menge an destilliertem Wasser in mL ergibt sich dann wie folgt:

$$Menge\ H_2O_{dest.}\ mL = Gesamtvolumen\ 1x\ TBE - Puffer\ mL - Menge\ TBE_{Konzentrat}\ mL \quad (8.5)$$

Bezogen auf unser Beispiel ergibt sich:

$$Menge\ H_2O_{dest.}\ mL = 300\ mL - 30\ mL = 270\ mL \quad (8.6)$$

8.5 Fachwissenschaftliche Information für Lehrkräfte

8.5.1 Die Geschmackswahrnehmung

Die gustatorische Wahrnehmung wird durch Reizung der Geschmacksknospen, welche zu den spezifischen Sinnesorganen des Geschmacks gehören, hervorgerufen (◘ Abb. 8.10). Die Hauptbestandteile dieser Knospen sind sensorische Neuronen, die am Ende, d. h. an der Oberfläche der Zunge, mit Geschmacksrezeptoren besitzenden Mikrovilli versetzt sind. Nach Stimulation durch einen Geschmacksstoff leiten Nervenfasern (am entgegengesetzten Ende jedes Neurons) dann die elektrischen Impulse an das Gehirn weiter (Chaudhari & Roper, 2010).

Grundsätzlich sind wir in der Lage, fünf Geschmacksrichtungen wahrzunehmen: bitter, süß, sauer, salzig und umami (Chaudhari & Roper, 2010). Umami entspricht dabei dem Geschmack von Glutamat und Aspartat. Wir haben daher die Fähigkeit, potenziell schädliche und giftige Substanzen (bitter, sauer) (Lalueza-Fox et al., 2009) von nahrhaften, nützlichen (süß, salzig, umami) zu unterscheiden (Chaudhari & Roper, 2010).

Im Gegensatz zu den äußerst vielfältigen Geschmacksstoffen, die wir als süß, z. B. Kohlenhydrate (Glucose, Saccharose, Peptidderivate, diverse Proteine) oder bitter, z. B. **Alkaloid**e oder Pflanzenstoffe empfinden, werden der saure Geschmack durch das Wasserstoff-Ion und salzige Substanzen durch das Natrium-Ion wahrgenommen. Die Aminosäuren Aspartat und Glutamat sind für die Identifizierung der als umami bezeichnete Geschmacksrichtung verantwortlich.

Im Falle von bitteren, süßen und umami Geschmacksstoffen werden diese über **7TM-Rezeptoren**,bestehend aus sieben Transmembranhelices, registriert (Hatt, 2019, S. 773–780), wohingegen bei salzigen und sauren Substanzen die direkte Auf-

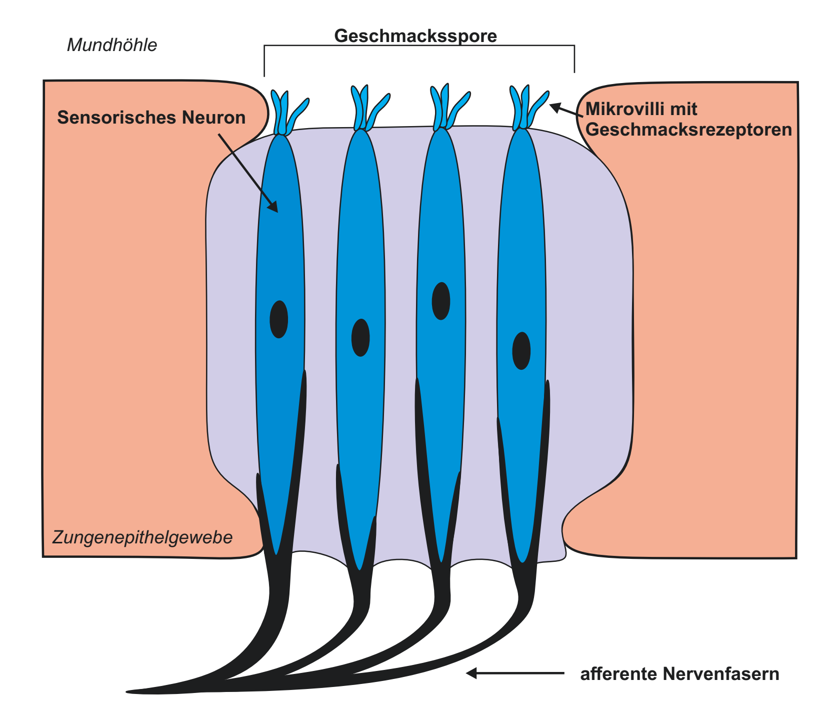


Abb. 8.10 **Aufbau einer Geschmacksknospe.** Die sensorischen Neuronen sind in Richtung der Geschmackspore mit Geschmacksrezeptoren besitzenden Mikrovilli versetzt. Nach Stimulation durch einen Geschmacksstoff leiten Nervenfasern dann den elektrischen Impuls an das Gehirn weiter. Die Nervenfasern sind hierbei entgegengesetzt zur Zungenoberfläche lokalisiert

nahme über Membrankanäle erfolgt. Dies führt zu einer Polarisierung der Membran, die dann zur Übertragung des Nervenimpulses führt.

Da die Signaltransduktionswege der 7TM-Rezeptoren über G-Proteine verlaufen, bezeichnet man sie häufig auch als G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCRs) (Christen et al., 2016, S. 331–344, 363–374).

8.5.2 Signaltransduktionswege

Alle Signalübertragungswege folgen dem Prinzip eines molekularen Schaltkreises. Solche molekularen Schalter stellen die Klasse der G-Protein dar. In ihrem GTP-gebundenen aktiven Zustand können sie Signale übertragen, wohingegen sie im

inaktiven GDP-gebundenen Zustand (Heterotrimer) die Signalübertragung verhindern (Berg et al., 2018, S. 469–498).

Prinzip der Signalübertragung (Christen et al., 2016, S. 331–344)

1. **Signalwahrnehmung** durch Interaktion mit Zelloberflächenrezeptor:
   - Ausschüttung eines primären Botenstoffs.
   - Signalmoleküle (**Ligand**) binden an Rezeptoren in der Zellmembran.
   - Übertragen der Information an das Zellinnere, dass Molekül gebunden hat.
2. **Verstärkung des Signals** durch Aktivierung bestimmter Kaskaden:
   - Konformationsänderung wird durch sekundäre Botenstoffe weitervermittelt.
   - Konzentrationsänderung von sekundären Botenstoffen wie z. B. cAMP, cGMP oder der Ca^{2+}-Ionen tritt ein.
3. **Übertragung des Signals** durch Aktivierung von **Effektor**en:
   - Effektoren wirken direkt auf physiologische Reaktion ein.
   - Pumpen oder Kanäle werden geöffnet, Enzyme oder Transkriptionsfaktoren aktiviert.
4. **Auslösung von Reaktionen**:
   - Steuerung von Stoffwechselwegen, Genexpression, Durchlässigkeit von Membranen.

Rückkopplungsmechanismen steuern Signalübertragungsvorgang und beenden dann die Signalübertragung.

8.5.3 G-Protein-gekoppelte Geschmacksrezeptoren

Sofern ein Rezeptor sowohl eine extrazelluläre als auch eine intrazelluläre Domäne besitzt, wird er als Transmembranproteinrezeptor bezeichnet.

Die größte Klasse von Zelloberflächenrezeptoren stellen die 7TM-Rezeptoren dar, welche auch als G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCRs) bezeichnet werden (◘ Abb. 8.11) (Hatt, 2019, S. 773–780). Diese Klasse von Rezeptoren ist auch bei der Erkennung bitterer Geschmacksstoffe involviert.

Aufgrund ihrer großen Diversität sind GPCRs an der Vermittlung zahlreicher biologischer Funktionen beteiligt (z. B. Geschmack, Geruch, Sehen, Hormonwirkung und -ausschüttung, Exozytose, Regulation des Blutdrucks, Zellwachstum und Zelldifferenzierung…).

Die Interaktion eines Liganden mit dem Rezeptor ruft eine Konformationsänderung des Rezeptors auf der intrazellulären Seite hervor. Infolgedessen kommt es zur Aktivierung des G-Proteins und eine Signalkaskade wird ausgelöst.

Die Kodierung spezifischer GPCRs, die an der bitteren Geschmackswahrnehmung beteiligt sind, erfolgt durch die Gene der *TAS1R*- und die *TAS2R*-Genfamilie. Innerhalb der *TAS2R*-Genfamilie (Carrai et al., 2011) machen 43 verschiedene Geschmacksrezeptoren die Identifizierung bitterer Geschmacksstoffe möglich. Diese GPCRs werden ausschließlich in den Geschmacksrezeptorzellen der Geschmackspapillen auf der Zunge exprimiert.

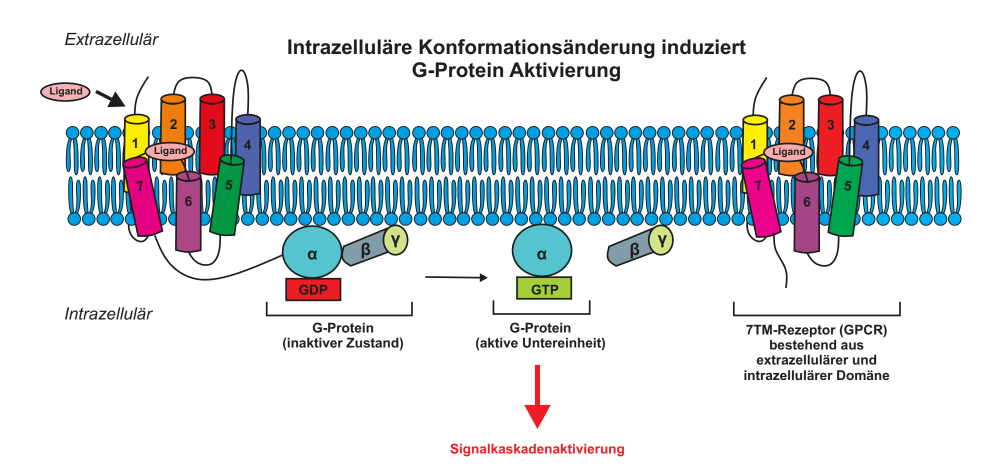


Abb. 8.11 Vereinfachte schematische Darstellung der Aktivierung G-Protein-gekoppelter Rezeptoren (GPCRs). Die sieben Transmembranhelices der GPCR sind farbig dargestellt und mit 1–7 nummeriert. Im inaktiven Zustand ist das daran gebundene G-Protein aus einem Heterotrimer (α-, β- und γ-Untereinheit) aufgebaut. GDP (rot) ist an die α-Einheit gebunden. Durch Interaktion des Liganden mit dem GPCR wird in der intrazellulären Domäne des Rezeptors eine Konformationsänderung induziert. Diese führt unter Abspaltung der Heterodimeren β- γ-Einheit und Bindung von GTP (grün) zur Aktivierung des G-Proteins. Folglich wird durch die aktive α-Untereinheit die Signalkaskade eingeleitet

Der am besten charakterisierte Rezeptor bindet Liganden wie 6-*n*-Propylthiouracil (PROP6) sowie Phenylthiocarbamid (PTC) (Hwang et al., 2016) und wird durch das *TAS2R38*-Gen kodiert (Lalueza-Fox et al., 2009). Phenylthiocarbamide kommen in bitter schmeckenden Gemüsesorten, wie z. B. Rosenkohl, vor (Hwang et al., 2016).

Es ist bekannt, dass Variationen in der DNA des *TAS2R38*-Gens beim Menschen zur Beeinflussung der Geschmackswahrnehmung führen (Hayes et al., 2008). Sogenannte SNPs sind dabei verantwortlich, ob ein Individuum die Fähigkeit besitzt, PTC als bitter zu schmecken oder nicht. Es sind drei SNPs bekannt (Duffy et al., 2004; Sollai et al., 2017), wodurch sich folgende zwei Allele PAV (Schmecker) und AVI (Nicht-Schmecker) ergeben. In der menschlichen Population gibt es Individuen PAV homozygot (starker Schmecker), AVI homozygot (Nicht-Schmecker) oder heterozygot (moderater Schmecker) (Duffy et al., 2004). Das Nicht-Schmecker-Allel wird bei Menschen rezessiv vererbt (Blakeslee, 1932).

8.6 Didaktische Überlegungen für Ihren Unterricht

8.6.1 Lehrplanbezug und Kompetenzförderung

Unter den fünf Geschmacksrichtungen, die Menschen wahrnehmen können, ist die bittere am vielfältigsten. Für keinen anderen Geschmack besitzen wir so viele Rezeptoren wie für Bitterstoffe (Behrens & Meyerhof, 2006). Gerade deswegen eig-

net sich dieses Modul besonders gut, Schüler*innen einen persönlichen Zugang zur Genetik zu ermöglichen und diese auch im Licht der Evolution zu beleuchten. Warum war es für uns Menschen besonders wichtig, verschiedenste Nuancen bitterer Geschmacksstoffe wahrnehmen zu können? In dem Zusammenhang kann auch der Einfluss der Industrialisierung auf unsere Nahrungsmittel reflektiert werden. Beispielsweise können in Supermärkten hauptsächlich Produkte von Hybridpflanzen gekauft werden, denen die Fähigkeit, Bitterstoffe zu produzieren fehlt, da diese heutzutage herausgezüchtet wird (Becker, 2011, S. 10 f)[1]. Bei dieser modernen Entwicklung in der Lebensmittelindustrie können neben den ökologischen (Sortenverarmung) auch die gesundheitlichen Folgen diskutiert werden, denn einige Bitterstoffe wie Intybine und Lactucin gelten als gesund und kommen sogar in der Naturheilkunde zum Einsatz [2].

Neben diesem Lebensweltbezug kann die bittere Geschmackswahrnehmung auch Modellcharakter für die Signaltransduktion annehmen. Diese funktioniert trotz der vielfältigen Rezeptoren analog zu umami und süß über die G-Protein-gekoppelte Weiterleitung. Dabei eröffnet die Signaltransduktion durch die Verknüpfung mit der Neurobiologie einen tieferen Einstieg in den vollständigen Weg von der Ligandenbindung über den Wechsel des chemischen zum elektrischen Signal bis hin zur Informationsverarbeitung im Gehirn. Damit kann neben den hier untersuchten Unterschieden auf genetischer Ebene (Basiskonzept Entwicklung) auch die damit einhergehende Struktur-Funktions-Beziehung thematisiert und auf das entsprechende Basiskonzept zurückgeführt werden.

Eine Übersicht verschiedener Lernbereiche und deren mögliche Kompetenzerwartungen sind exemplarisch mit Beispielen aus dem bayerischen Lehrplan in ◘ Tab. 8.6 gezeigt (S. f. S. u. B. ISB, 2022).

8.6.2 Schülerorientierung

In diesem Modul ist die Gegenüberstellung von Gen und Merkmal sowie Genotyp und Phänotyp gut möglich, da sich die Auswirkungen der genetischen Variation direkt in der bitteren Geschmackswahrnehmung auf der phänotypischen Ebene wiederspiegeln. Entsprechend sollte der Wechsel der beiden Ebenen vom Genotyp zum Phänotyp im Verlauf der Durchführung der PCR explizit thematisiert werden, um die Trennung der beiden Ebenen immer wieder zu klären (Kattmann, 2015). Besonders empfehlenswert ist die Thematisierung der gesamten Wirkkette (Schwanewedel et al., 2008). Für den Unterrichtseinstieg in das Thema können einerseits individuelle phänotypische Beobachtungen in der Klasse dienen, um eine Problemfrage für die DNA-Analyse zu generieren – warum schmecken wir die Geschmacksrichtung bitter unterschiedlich?

1 Online Auftritt Stiftung Warentest: ► https://www.test.de/Gemuese-aus-dem-Garten-Giftige-Bitterstoffe-in-Kuerbis-und-Zucchini-4901183-0/.

2 Online Auftritt BZfE (2020): ► https://www.bzfe.de/lebensmittel/vom-acker-bis-zum-teller/salate/salate-gesund-essen/.

Tab. 8.6 Lernbereiche und Kompetenzerwartungen zum Modul *Taste Impossible*

Lernbereich/ Thema	Relevante Kompetenzerwartungen und Inhalte
Speicherung und Realisierung genetischer Information	Schüler*innen erläutern die Aufgaben und das Zusammenwirken von Proteinen bei der Ausbildung von Merkmalen, Genwirkkette. *Das Merkmal „grünes Gemüse bitter zu schmecken" hängt von der Fähigkeit ab, Polycarbamide aufgrund des Geschmacksrezeptors TAS2R38 wahrzunehmen. Damit ist das ein klassisches Beispiel von Gen > Protein > Merkmal.*
Neukombination und Veränderung genetischer Information	Schüler*innen erklären den Zusammenhang zwischen genetischen Neukombinationsprozessen und der Evolution der bisherigen und zukünftigen Biodiversität. Genmutationen: Austausch, Verlust oder Einschub von Nukleotiden; Ursachen von Genmutationen (Mutagene) und Auswirkungen auf die Proteinfunktion *Beispiel eines erfahrbaren SNP aufgrund seines direkten Einflusses auf die sinnesphysiologische Ebene. Gleichzeitig können die Notwendigkeit der bitteren Geschmackswahrnehmung und mögliche Begründungen für die diversen Rezeptoren im Sinne der Evolution reflektiert werden (z. B. bitter = Hinweis auf giftig, unreif, ungenießbar).*
Reizweiterleitung	*G-Protein-gekoppelte Kaskade als Beispiel für Reizweiterleitung und Reflexion des Mechanismus, der an unterschiedlichen Stellen des Körpers Anwendung findet. (Die Antwort der G-Protein-gekoppelten Kaskade ist bei vielen bitteren Geschmacksrezeptoren gleich, obwohl der Reizauslöser, also das Ligand-Molekül, unterschiedlich ist.).*
Nahrungsmittel-industrie	*Reflexion der Bitterstoffe als gesunde Bestandteile unserer Ernährung und der Problematik, dass diese aus vielen grünen Gemüsen herausgezüchtet werden. Bewusstsein schaffen.*
Evolution	*Reflexion, dass der Verlust der Wahrnehmung bitterer Polycarbamide heutzutage möglich war, da auf dieses Merkmal kein Evolutionsdruck mehr herrscht. In dem Kontext kann auch die tatsächliche Bedeutung von „Survival of the fittest" im Sinne der Angepasstheit explizit behandelt werden.*

Andererseits eignet sich auch der fachliche Zugang über die unterschiedlichen Genotypen und die beiden dafür verantwortlichen Allele (PAV vs. AVI, ► Abschn. 8.5) nach der Behandlung der klassischen Genetik, wobei die Punktmutation als Grund für eine veränderte Aminosäuresequenz und damit eine veränderte Rezeptorfunktion als fachlich bedeutsames Konzept für die genetische Variabilität erarbeitet werden kann. Abb. 8.12 verdeutlicht die komplexen Zusammenhänge von Genotyp und Phänotyp und deren Verknüpfung über die vier verschiedenen Analyseschritte DNA-Extraktion, PCR, Restriktionsverdau und Agarose-Gelelektrophorese. Darüber hinaus bietet sich eine gesellschaftlich relevante Querverbindung zur Lebensmittelindustrie an, da Gene für die Produktion von Bitterstoffen über Züchtung gezielt in grünem Gemüse minimiert oder daraus entfernt werden, um dem Kundengeschmack entgegenzukommen.

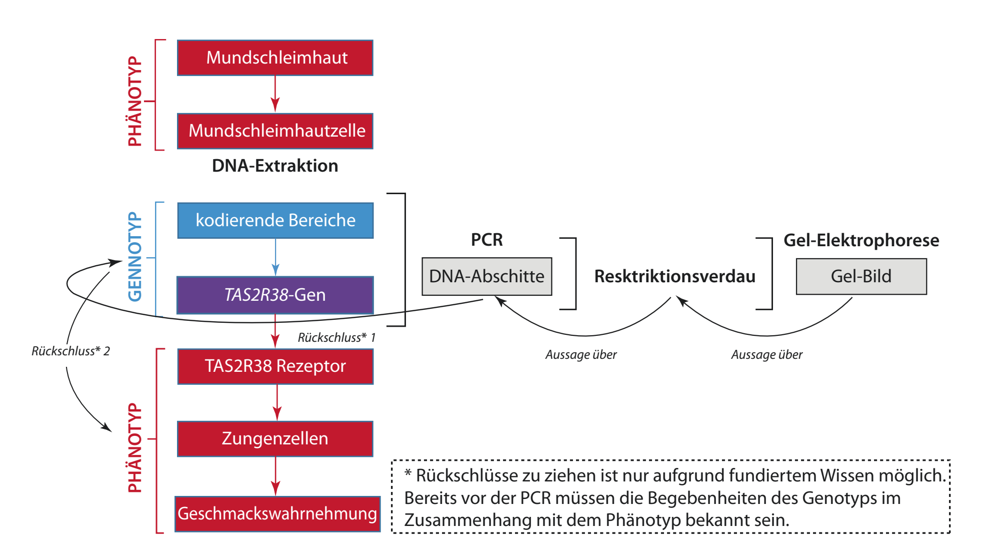


Abb. 8.12 Darstellung der Zusammenhänge zwischen genetischen und phänotypischen Grundlagen sowie deren Verknüpfung mit molekularbiologischen Methoden. Am Beispiel *Taste Impossible* wird der Ebenenwechsel (Genotyp – Analyse – Phänotyp) grafisch verdeutlicht

8

In dem Zusammenhang kann dann der Unterschied des Merkmals „Bitter-schmecken" und dem menschlichen Genotyp „Punktmutation in *TAS2R*" weiterführend diskutiert werden, weil die untersuchte Einheit sich nur auf Phenylthiocarbamide bezieht, es aber noch weitere bittere Geschmacksstoffe gibt, die von anderen Rezeptoren wahrgenommen werden. Dabei könnte auch Geschmack als Komposition verschiedener Moleküle diskutiert werden, denn Rosenkohl schmeckt anders als Chicorée, obwohl beide u. a. durch Phenylthiocarbamide bitter schmecken. Damit könnte sowohl das Denken in Vielfalt (Kattmann, 2015) als auch von multifaktoriellen Gegebenheiten geübt werden (Schwanewedel et al., 2008).

8.6.3 Umsetzung *Taste Impossible* als Gruppenpuzzle

Das Gruppenpuzzle (z. B. Frey-Eiling & Frey, 2011) ist eine Form der Gruppenarbeit und kann als Form des kooperativen Lernens die Lernergebnisse von Schüler*innen gegenüber dem Frontalunterricht verbessern (Preska, 2015; Tepner et al., 2009). Es eignet sich dafür, durch die Lehrkraft strukturierte, komplexe Themenbereiche von den Schüler*innen in Gruppen kooperativ bearbeiten zu lassen und kann so in Anlehnung an Gerstenmaier & Mandl (1995) konstruktivistisches Lernen im Biologieunterricht u. a. durch (1) Umgang mit realistischen Problemen und authentischen Situationen, (2) multiple Kontexte für einen flexiblen Transfer auf andere Problemstellungen, (3) kooperatives Problemlösen in Lerngruppen sowie (4) gemeinsames Lernen in der Interaktion unterstützen.

Jede dieser Gruppen, die sogenannten Expertengruppen, bearbeiten einen anderen Teil des hier vorgestellten Moduls. Zum Modul *Taste Impossible* bieten sich mehrere Expertengruppen in Vorbereitung auf die gemeinsame praktische Arbeit

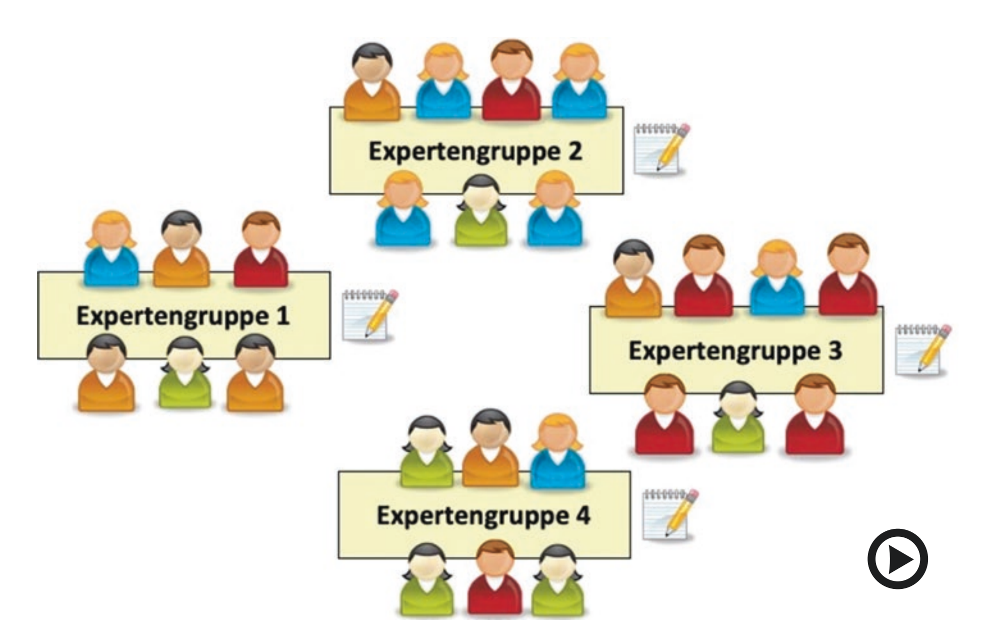


Abb. 8.13 **Gruppenbildung und Ablauf eines Gruppenpuzzles zum Modul *Taste Impossible*** (▶ https://doi.org/10.1007/000-6fw)

an, um einerseits die fachlichen Informationen gezielt für den Kontext zu wiederholen bzw. neu aufbereiten zu lassen und andererseits Hintergrundwissen für das methodische Vorgehen bei der PCR und Agarose-Gelelektrophorese in den Gruppen bereitzustellen. Dann werden die Expertengruppen aufgelöst und neue Gruppen, die Vermittlungsgruppen, gebildet. In den Vermittlungsgruppen erklärt jede*r Expert*in den anderen Schüler*innen, was diese zuvor in der Expertengruppe über ihre Spezialgebiete gelernt hat. Die Umsetzung wird in Abb. 8.13 zusammenfassend gezeigt.

- **Vorbereitung**

- Teilen Sie das fachliche und methodische Hintergrundwissen für das Modul *Taste Impossible* für die Umsetzung in den beiden Unterrichtsdoppelstunden in fachlich sinnvolle und ungefähr gleich große Erarbeitungsgebiete für die Schüler*innen auf. Es bieten sich u. a. diese sechs Expertenthemen mit je drei fachlichen und methodischen Schwerpunkten an: (1) Grundlagen der Genetik (Mendel, DNA usw.) (Basiswissen, Anforderungsbereich I, ▶ Abschn. 4.1); (2) Gen-Mutationen mit SNP und seinen Auswirkungen (Anforderungsbereich I-II); (3) Bitter-schmecken mit G-Protein-Kaskade (Anforderungsbereich III). (4) PCR-Methode (Anforderungsbereich II, Abschn. ▶ 3.1 und ▶ Abschn. 8.2.2); (5) Agarose-Gelelektrophorese mit Interpretation des Gel-Bilds (Anforderungsbereich II, ▶ Abschn. 3.2 und ▶ Abschn. 8.2.5); (6) Restriktionsverdau und Enzyme (Anforderungsbereich III). Die Planung von unterschiedlich komplexen Unterthemen bzw. zu wiederholenden und neu zu erarbeitenden Elementen bietet darüber hinaus gute Möglichkeiten für die Dif-

ferenzierung innerhalb der Lerngruppe. Nach didaktischen Erwägungen oder falls die Schüler*innenzahl in der Klasse nicht vollständig aufgeht, können ausgewählte Unterthemen auch mit doppelter Anzahl von Schüler*innen besetzt werden, die an dem Thema arbeitsgleich arbeiten.
- Bereiten Sie entsprechendes Arbeitsmaterial vor (Texte, Bildmaterial, Videos, kleine Handexperimente, Modelle/Modellbaukasten etc.); eine Auswahl steht Ihnen auch im Online-Material zur Verfügung (▶ Abschn. 8.7).
- In unserem Beispiel gehen wir von 30 Schüler*innen im Biologiekurs aus. Sie können die Anzahl der Expertenthemen und die Größe der Vermittlungsgruppen nach Bedarf an Ihre Klassengröße anpassen. Teilen Sie zu Beginn des Unterrichtsmoduls Ihre gesamte Lerngruppe in kleine bis mittelgroße Gruppen je nach Anzahl der vorgesehenen Expertenthemen auf (hier: sechs Expertengruppen mit je fünf Personen) und geben Sie die vorbereiteten Materialien in die so entstandenen Expertengruppen.

- **Aneignungsphase**
- Jede*r Lernende der Expertengruppe bearbeitet die Fragestellung des Themas.
- Die Expertengruppe stellt die wesentlichen Punkte des Themas zusammen und erstellt didaktische Materialien (Tischvorlage, Wandzeitung, PowerPoint-Präsentation, digitale Pinnwand, *shared documents* usw.), damit jedes Gruppenmitglied über die gleichen Informationen in der Vermittlungsphase verfügen kann.
- Jedes Mitglied einer Expertengruppe ist am Ende dieser Aneignungsphase Experte seines Gruppenthemas.

- **Vermittlungsphase**
- Die gesamte Lerngruppe wird nun in sog. Vermittlungsgruppen neu zusammengesetzt, sodass je ein Experte der o. g. sechs Unterthemen in einer Vermittlungsgruppe vorhanden ist. In unserem Beispiel zum Modul *Taste Impossible* resultieren fünf Vermittlungsgruppen, bestehend aus je sechs Experten. Sollten Sie mehr Expertenthemen vorbereitet haben, erhöht sich die Anzahl der Schüler*innen in den Vermittlungsgruppen entsprechend.
- Jede*r Expert*in erklärt den anderen Gruppenmitgliedern das eigene Spezialgebiet und lernt dabei von den anderen.
- Die neuen Informationen sollten nicht nur vermitteln, sondern von den Gruppenmitgliedern auch reflektiert und auf die praktische Durchführung der PCR, des Restriktionsverdaus und die Agarose-Gelelektrophorese angewendet werden. Dies kann gewährleistet werden, wenn sich die Expertengruppen eines Unterthemas zuvor Aufgaben für die neuen Gruppen überlegen und so die lernenden Nicht-Experten zur Anwendung des neu gelernten Stoffs anleiten.

- **Schwierigkeiten, die bei der Anwendung des Gruppenpuzzles auftauchen können**
- Die Schnittstellen zwischen kooperativer Arbeitsphase und individuellen Lernschritten müssen gut geplant werden, damit keine Unruhe aufkommt und möglichst wenig Zeit ineffizient verstreicht.

8

- Es arbeiten nicht alle Schüler*innen gleich schnell, daher sollten Zusatzmaterialien ggf. für die Schnellen vorbereitet werden und zur Verfügung stehen. Schwächere Schüler*innen können mit variierenden Medien unterstützt werden (z. B. Erklärvideos, Anfertigen von Sprachnotizen etc.).

8.7 Online-Material

Zur weiteren Vertiefung steht Ihnen zusätzliches Material online zur Verfügung (sn.pub/rEt5bJ). Unter anderem finden Sie dort die Flussdiagramme zu den Abläufen des praktischen Vorgehens in detaillierter Ausführung. Diese eignen sich als Arbeitsanweisungen für Schüler*innen für die praktische Umsetzung und können direkt ausgedruckt werden. Entsprechend stehen Ihnen auch die Bild- und Videodateien zur Nutzung im Unterricht zur Verfügung. Des Weiteren finden Sie dort verschiedene Aufgabenformate zu versuchsspezifischen Fragen, die auch für die Erarbeitungsphasen in den Expertengruppen und Vermittlungsgruppen herangezogen werden können. Die Musterlösungen werden Ihnen dort ebenfalls angegeben und können von den Lerngruppen als Feedback genutzt werden.

► **Beispiel**

Auszug eines Arbeitsblatts für *Taste Impossible*

Bei der Vererbung der Schmeckfähigkeit bzw. Nicht-Schmeckfähigkeit bitterer Stoffe wird das Nicht-Schmecken autosomal rezessiv vererbt.

Zeichnen Sie das Kreuzungsquadrat, wenn beide Eltern heterozygote Schmecker (HE S) sind. Geben Sie die jeweiligen Wahrscheinlichkeiten für die jeweiligen Geno- und Phänotypen an (T: Schmecker, t: Nicht-Schmecker). ◄

Das hier vorgestellte Versuchskonzept kann ohne weitere Sicherheitsregularien an Schulen durchgeführt werden. Trotzdem können Sie online die entsprechenden Sicherheitsdatenblätter abrufen (sn.pub/rEt5bJ).

Zusammenfassung

Der Versuch *Taste Impossible* bettet den Einfluss eines Einzelnukleotidpolymorphismus (SNP) im Genotyp auf die Funktionalität eines Enzyms und seine Auswirkung auf die bittere Geschmackswahrnehmung auf der Merkmalsebene ein. Dabei können Lehrkräfte und ihre Lerngruppen die eigenen Allele eines Rezeptors für bitteren Geschmack untersuchen. Der Einzelnukleotidpolymorphismus gibt im Anschluss darüber Auskunft, ob Sie mit ihrem Genotyp Polycarbamide, die z. B. den bitteren Geschmack in grünem Gemüse hervorrufen, schmecken können oder nicht. In diesem Kontext kann damit das Konzept des Genotyps und der genetischen Variabilität mit ihrer Auswirkung auf den Phänotyp persönlich erfahrbar gemacht werden. Dieses Kapitel enthält eine detaillierte Anleitung zur Durchführung mit wichtigen Hinweisen, wie Sie Schüler*innen im Verständnis dieser komplexen Thematik unterstützen und praktische Fehler bei der Durchführung der PCR und Agarose-Gelelektrophorese vermeiden können. Diese praktische Einheit kann damit leicht an die individuellen Bedürfnisse Ihres Unterrichts angepasst werden, dazu werden Hilfestellungen und methodische Tipps gegeben.

Literatur

Becker, H. (2011). *Pflanzenzüchtung* (2. Aufl.). UTB GmbH; Ulmer.

Behrens, M., & Meyerhof, W. (2006). Bitter taste receptors and human bitter taste perception. *Cellular and molecular life sciences : CMLS, 63*(13), 1501–1509. https://doi.org/10.1007/s00018-006-6113-8

Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J., Jr, & Stryer, L. (2018). *Stryer Biochemie* (8. Aufl. 2018 ed.). Springer Spektrum.

Blakeslee, A. F. (1932). Genetics of sensory thresholds: Taste for phenyl thio carbamide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 18*(1), 120–130.

Breitkreutz, J. (2008). Bittere Arzneistoffe gut kaschiert. *Pharmazeutische Zeitung, Avoxa – Mediengruppe Deutscher Apotheker GmbH, 2008*(06). https://www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-062008/bittere-arzneistoffe-gut-kaschiert/. Zugegriffen am 14.02.2022.

Burger, K. (2020). Pflanzenzucht: Genetische Erosion. In *Super-Food für Wissenshungrige!* (S. 11–17). Springer.

Carrai, M., Steinke, V., Vodicka, P., Pardini, B., Rahner, N., Holinski-Feder, E., et al. (2011). Association between TAS2R38 gene polymorphisms and colorectal cancer risk: A case-control study in two independent populations of Caucasian origin. *PloS one, 6*(6), e20464. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020464

Chaudhari, N., & Roper, S. D. (2010). The cell biology of taste. *The Journal of Cell Biology, 190*(3), 285–296. https://doi.org/10.1083/jcb.201003144

Christen, P., Jaussi, R., & Benoit, R. (2016). *Biochemie und Molekularbiologie*. Springer.

Cohen, & Vig, P. S. (1976). A serial growth study of the tongue and intermaxillary space. *The Angle Orthodontist, 46*(4), 332–337.

Duffy, V. B., Davidson, A. C., Kidd, J. R., Kidd, K. K., Speed, W. C., Pakstis, A. J., … Bartoshuk, L. M. (2004). Bitter receptor gene (TAS2R38), 6-n-Propylthiouracil (PROP) bitterness and alcohol intake. *Alcoholism: Clinical & Experimental Research, 28*(11), 1629–1637. https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000145789.55183.D4

Frey-Eiling, A., & Frey, K. (2011). Das Gruppenpuzzle. In J. Wiechmann (Hrsg.), *Zwölf Unterrichtsmethoden* (5., überarb. Aufl.). Beltz.

Gerstenmaier, J., & Mandl, H. (1995). Wissenserwerb unter konstruktivistischer Perspektive. *Zeitschrift für Pädagogik, 41*(6), 867–888.

Gilbertson, T. A., Damak, S., & Margolskee, R. F. (2000). The molecular physiology of taste transduction. *Current Opinion in Neurobiology, 10*(4), 519–527.

Hatt, H. (2019). Geschmack. In R. Brandes, F. Lang, & R. F. Schmidt (Hrsg.), *Physiologie des Menschen* (32. Aufl., S. 773–780). Springer.

Hayes, J. E., Bartoshuk, L. M., Kidd, J. R., & Duffy, V. B. (2008). Supertasting and PROP bitterness depends on more than the TAS2R38 gene. *Chemical Senses, 33*(3), 255–265. https://doi.org/10.1093/chemse/bjm084

Hwang, L.-D., Breslin, P. A. S., Reed, D. R., Zhu, G., Martin, N. G., & Wright, M. J. (2016). Is the association between sweet and bitter perception due to genetic variation? *Chemical Senses*. https://doi.org/10.1093/chemse/bjw083

ISB, S. f. S. u. B. (2022). LehrplanPlus Bayern. www.lehrplanplus.bayern.de

Kattmann, U. (2015). Die Neigung, Fehler zu machen, und wie man mit ihnen lernen kann. Themenheft: Fehler-Neigung und Didaktische Rekonstruktion. (Seminar 04/2015).

Keast, R. S. J., & Breslin, P. A. S. (2002). Modifying the bitterness of selected oral pharmaceuticals with cation and anion series of salts. *Pharmaceutical Research, 19*(7), 1019–1026.

Lalueza-Fox, C., Gigli, E., La Rasilla, M., Fortea, J., & Rosas, A. (2009). Bitter taste perception in Neanderthals through the analysis of the TAS2R38 gene. *Biology Letters, 5*(6), 809–811. https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0532

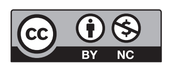
Preska, A. (2015). *Bedingungen für den Erfolg kooperativer Lernformen: Forschungsstand, Lernwirksamkeit und die Methode des Gruppenpuzzles*. Diplomica.

Schwanewedel, I., Hößle, C., & Kattmann, U. (2008). Vorstellung zur Rolle der Gene im Bezug auf die Gesundheit und Krankheit des Menschen. In U. Harms & A. Sandmann (Hrsg.), *Lehr-und Lernforschung in der Biologiedidaktik* (Bd. 3, S. 179–195). Studien.

Sollai, G., Melis, M., Pani, D., Cosseddu, P., Usai, I., Crnjar, R., … Tomassini Barbarossa, I. (2017). First objective evaluation of taste sensitivity to 6-n-propylthiouracil (PROP), a paradigm gustatory stimulus in humans. *Scientific Reports, 7*, 40353. https://doi.org/10.1038/srep40353

Tepner, M., Roeder, B., & Melle, I. (2009). Effektivität des Gruppenpuzzles im Chemieunterricht der Sekundarstufe I. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 15*, 7–29.

Thiedig, F. (2005). Das schmeckt irgendwie nach mir selbst oder: Vom regionalen Geschmack zum Terroir. In T. Hauer (Hrsg.), *Das Geheimnis des Geschmacks* (S. 64–177). Anabas.





Food Wars Episode I: Laktoseintoleranz schlägt zurück

Inhaltsverzeichnis

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_9

9.1 Impuls

Bei Krankheiten, die mit Zucker zusammenhängen, denken viele zuerst an Diabetes. Dabei gibt es einen Zucker, der uns alle noch vor einigen tausend Jahren krank gemacht hätte: Laktose. Laktose ist die einzige Kohlenhydratquelle in Säugetiermilch und kommt natürlich ausschließlich in dieser vor (Ranciaro et al., 2014). Die Fähigkeit Laktose zu verdauen ist damit für Säuglinge essenziell, für Erwachsene allerdings nicht (Rasinperä et al., 2005). Warum können also so viele in Westeuropa Milchprodukte ohne unangenehme Nebenwirkungen konsumieren? Das ermöglicht eine junge Mutation im Humangenom, welche die **Genregulation** und nicht das Gen selbst verändert (Heine et al., 2017; Leseva et al., 2018).

Dieses Modul ermöglicht Ihnen, DNA-Modifikationen zu untersuchen, bei denen epigenetische Effekte eine Rolle spielen. Machen Sie mehr aus dem genetischen Verständnis Ihrer Schüler*innen und gehen Sie über die Klassiker der Genregulation des *Lac*-Operon und das epigenetische Phänomen am Beispiel der Verwendung von Gelee Royal zur Aufzucht der Bienenkönigin hinaus. Erleben Sie veränderte Genregulation anhand einer allgegenwärtigen Lebensmittelunverträglichkeit: Laktoseintoleranz (Abb. 9.1)

Glückstädter Anzeiger

**Gymnasium in Aktion:
Neues aus dem Genlabor**

Glückstadt, 20.02.2019
Seit der Petition von Simon P. zum angepassten Schulstart, diskutiert die Politik wieder. Währenddessen beschäftigt sich die Schülerschaft weiterhin mit genetischer Ungerechtigkeit. Im neuen Fokus Laktoseintoleranz.

Angebot der Mensa unzureichend. „Lebensmittelunverträglichkeiten finden kaum Beachtung!" - das sagt Anna L. über ihre Schulcafeteria. Ihr kleiner Bruder verträgt keine Milch und seit sie im Biologieunterricht erfuhr, das die Unverträglichkeit von Laktose im Erwachsenwerden nur natürlich ist, will sie handeln.

Diese haben somit keine Beschwerden beim Milchkonsum. Die Entstehung dieser Mutation ist ethnisch sowie geografisch getrennt und hängt mit der unterschiedlichen Entwicklung der Milchwirtschaft zusammen.

Die Stimme der Wissenschaft. Wie schon oft steht uns Prof. Bastian, Leiter des Biochemie Lehrstuhls der Universität Glückstadt, bei genetischen Fragen zur Seite:

Abb. 9.1 Ausschnitt eines thematisch passenden Zeitungsartikels. Dieser Zeitungsartikel ist eines von mehreren Elementen, die Ihnen als didaktisches Begleitmaterial online zu den Versuchen zur Verfügung gestellt werden

9.2 Durchführung

Dieses Modul ist das komplexeste in diesem Buch. Das gilt sowohl für die fachlichen Hintergründe als auch für die Umsetzung. Die genetischen Grundlagen sind zwar bekannt, denn Sie untersuchen wie in ► Kap. 8, einen Einzelnukleotidpolymorphismus (SNP), wobei dieser in einer regulatorischen Einheit außerhalb der kodierenden Gensequenz liegt (► Abschn. 9.5). Im Unterschied zu den anderen Modulen hat die veränderte DNA-Sequenz keinen Einfluss auf die Proteinstruktur, sondern beeinflusst die Fähigkeit, das zugrundeliegende Gen auch im Erwachsenenalter zu exprimieren. Man spricht daher von **Laktase-Persistenz (LP)**. Im Falle des **Wildtyps**, der Laktose im Erwachsenenalter aufgrund der gestoppten Genexpression nicht mehr verdauen kann, spricht man von **Laktase-Nicht-Persistenz (LNP)**. Hier kann es sinnvoll sein, sich die Theorie vor der Praxis zu erarbeiten (► Abschn. 9.5). Die beiden Primer für die PCR werden hier einzeln hinzugegeben, wodurch das zu pipettierende Volumen noch kleiner wird, als aus den vorangegangenen Modulen bekannt. Die Auswertung des DNA-Bandenmusters gestaltet sich wegen der viel kleineren DNA-Fragmente im Vergleich zu den anderen Versuchen schwieriger. Aus diesem Grund eignet sich dieses Modul für Fortgeschrittene.

Es empfiehlt sich, den Versuch in zwei Doppelstunden durchführen. Sie können die Durchführung auch hier nach der PCR unterbrechen. In ◘ Abb. 9.2 ist die Versuchsübersicht unter Angabe der relevanten Methoden gezeigt. Damit Sie als Lehrkraft einen ersten Eindruck bekommen, wie viel Zeit die praktische Durchführung der einzelnen Teilschritte in Anspruch nimmt, haben wir entsprechende Zeitangaben in die Abbildung integriert. Unsere Einschätzungen der Zeiten können je nach Jahrgangsstufe und praktischem Erfahrungsbereich Ihrer Schüler*innen abweichen. In diesem Versuch werden Sie den Genotyp des SNP -13.910:C>T ihres eigenen **Intron** 13 des *MCM6* Gens (*Minichromosome Maintenance Complex Component 6*) bestimmen. Falls ein SNP vorliegt, ist an Position -13.910 die Nukleobase Cytosin durch Thymin ersetzt. Dazu amplifizieren Sie eine 183 bp große Region des entsprechenden Introns. Ein Restriktionsverdau ermöglicht im Anschluss eine Unterscheidung des Persistenz- und Nicht-Persistenz-Allels. Das Restriktionsenzym *Cvi*KI-1 kann das Nicht-Persistenz-Allel zweimal spalten, wodurch drei DNA-Fragmente mit 122 bp, 36 bp und 25 bp entstehen. Im Fall des dominanten Persistenz-Allels entstehen nur zwei DNA-Banden bei 122 bp und 61 bp, weil der SNP die Erkennungssequenz zerstört. Die Schnittstellen in der amplifizierten Region des *MCM6*-Gens sind zur Veranschaulichung in ◘ Abb. 9.3 dargestellt.

Im Folgenden wird die Durchführung der einzelnen Methoden im Detail beschrieben.

Tipp

In diesem Versuch kann jede*r Schüler*in eine eigene Probe analysieren. Es empfiehlt sich, ein einheitliches Beschriftungssystem festzulegen, z. B. die Initialen. Das erleichtert den Schüler*innen, ihre eigenen Ansätze aus den Geräten zu holen.

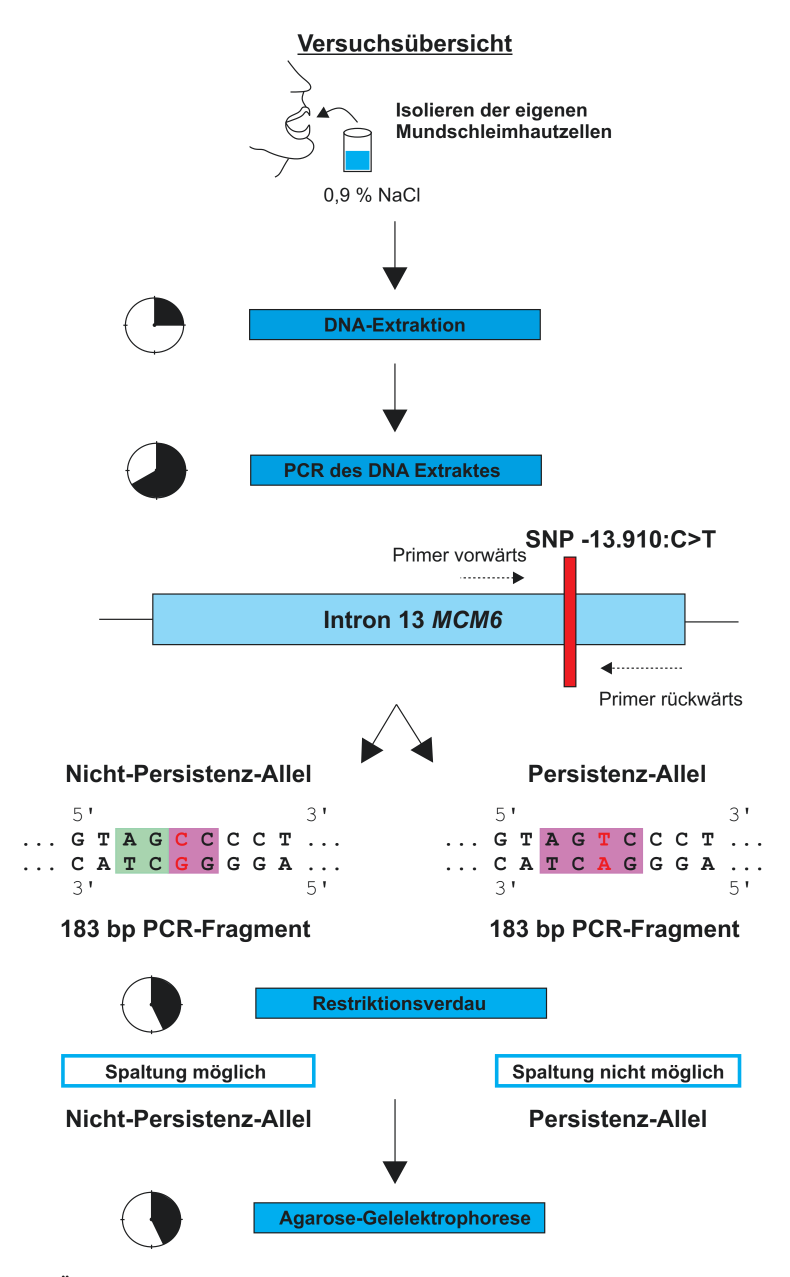
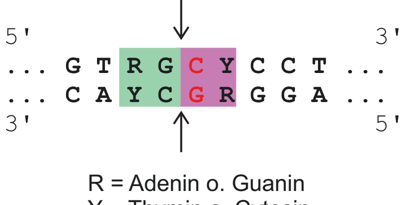
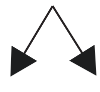


Abb. 9.2 **Übersicht zur Analyse der genetischen Prädisposition von Laktase-Persistenz.** Im ersten Schritt wird genomische DNA aus Mundschleimhautzellen gewonnen. Der DNA-Extrakt dient in der folgenden PCR als Template zur Amplifikation der intronischen Region des *MCM6*-Gens, in der die regulatorische Einheit des *LCT*-Gens (Laktase-Phlorizin-Hydrolase-Gen) liegt. Die Primer flankieren dabei die Start- und Endposition. Die Unterscheidung des SNP erfolgt über einen Restriktionsverdau mit dem Restriktionsenzym *CviKI-1*. Die Analyse des Persistenz- oder Nicht-Persistenz-Allels erfolgt abschließend mittels Agarose-Gelelektrophorese. Die wesentlichen Arbeitsschritte sind in blau hervorgehobenen Blöcken dargestellt.

***CviKI-1* Erkennungssequenz**



R = Adenin o. Guanin
Y = Thymin o. Cytosin



Spaltung möglich

Spaltung nicht möglich

Nicht-Persistenz-Allel



kein SNP

SNP vorhanden

5' 3'
... G T A G C C C C T...
... C A T C G G G G A...
3' 5'

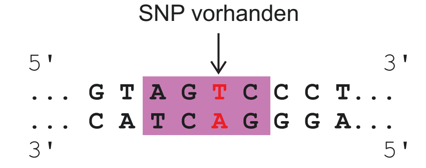


Abb. 9.3 Darstellung der Schnittstellen von *CviKI-1* in der amplifizierten Region von *MCM6*. Im Falle des Nicht-Persistenz Allels liegt die Erkennungssequenz von *CviKI-1* vor. Der SNP zerstört diese im Persistenz-Allel, sodass dieses kein zweites Mal von *CviKI-1* geschnitten werden kann.

Wichtig

Achten Sie bei der Durchführung auf die allgemeingültigen Prinzipien des sicheren Arbeitens im Labor, um Schüler*innen frühzeitig für diese zu sensibilisieren. Es empfiehlt sich, während des gesamten Versuchs Handschuhe zu tragen.

9.2.1 DNA-Extraktion

Zunächst extrahieren Sie Ihre genomische DNA aus Ihren Mundschleimhautzellen (Abb. 9.4).

Wichtig

Vermeiden Sie 20 min vor der DNA-Extraktion das Kauen von Kaugummi oder ähnlichen Menthol/Mint-Süßigkeiten, da das Ergebnis dadurch negativ beeinflusst werden kann.

Für die Extraktion stehen Ihnen zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Einerseits die Extraktion über eine Mundspülung mit einer 0,9 %-igen Natriumchlorid-Lösung und zweitens die mechanische Extraktion mit einem Zahnstocher. Hier wird der

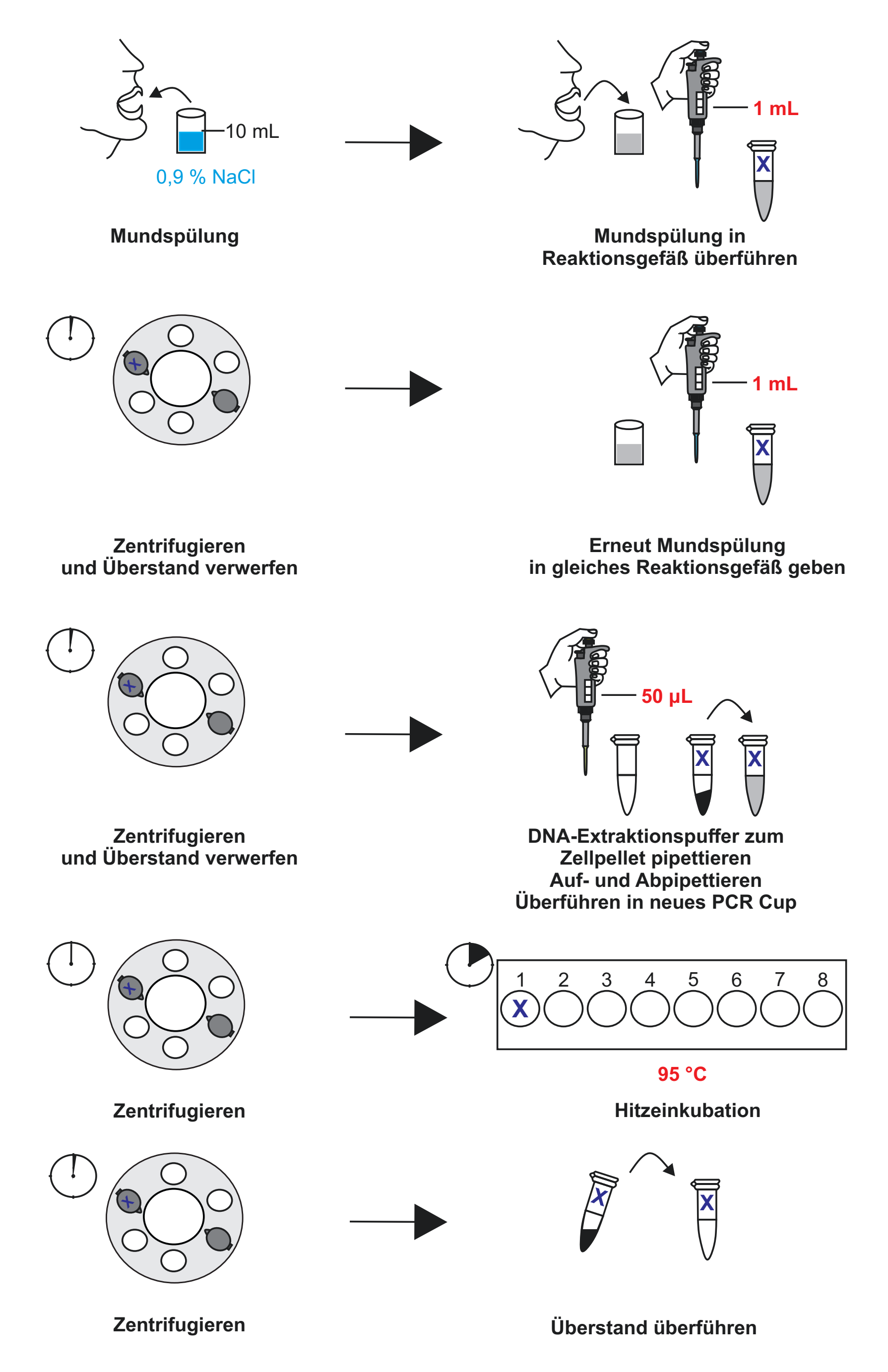


Abb. 9.4 **Durchführung der DNA-Extraktion aus Mundschleimhautzellen.** Durch Verwendung des DNA-Extraktionspuffers ist eine Isolation der eigenen DNA aus Mundschleimhautzellen möglich. Nach Aufschluss der Mundschleimhautzellen und Zentrifugation kann im letzten Schritt der Überstand, welcher die isolierte DNA beinhaltet, vom Pellet getrennt werden.

Vorgang mit der Mundspülung vorgestellt (Lench, 1988), die Anleitung zur mechanischen Extraktion finden Sie in ► Abschn. 8.2.1. Pro Person wird Folgendes vorbereitet:

Eppendorf-Reaktionsgefäß	1,5 mL
Zwei PCR-Gefäße	0,2 mL
Zwei Becher	

Geben Sie 10 mL 0,9 %-ige NaCl-Lösung in den Becher und spülen Sie damit für 30 Sekunden den Mund.

Wichtig
Nicht schlucken!

Spucken Sie die Lösung in einen frischen Becher aus und überführen Sie davon 1 mL in das 1,5 mL Reaktionsgefäß.
Zentrifugieren Sie für 1 ändern zu Minute.

Wichtig
Achten Sie beim Zentrifugieren darauf, dass die Proben ausbalanciert sind (► Abb. 5.2).

Der Überstand wird verworfen.

Wichtig
Pipettieren Sie den Überstand (klare Lösung) vorsichtig und achten Sie darauf, nichts von dem Pellet abzusaugen.

Wichtig
Das Pellet ist der weiße Feststoff am Boden des Reaktionsgefäßes und enthält die Mundschleimhautzellen und damit die genomische DNA.

Geben Sie nochmals 1 mL der Mundspülung in das gleiche Reaktionsgefäß und zentrifugieren Sie wieder für 1 min.

Tipp

Wenn kein Pellet zu sehen ist, wiederholen Sie den Schritt der Zentrifugation oder den des Spülens.

Folgende Reagenzien werden in das Reaktionsgefäß mit dem Pellet ohne Überstand pipettiert:

DNA-Extraktions-Puffer	50 µL

Resuspendieren Sie das Pellet durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren und überführen Sie die Suspension in das vorbereitete PCR-Gefäß. Abschließend werden die DNA-Proben in den Thermozykler gestellt und der Deckel verschlossen. Überprüfen Sie, dass das Gerät ausgeschaltet ist.

Wichtig
Der Einstellungsknauf des Thermozyklers ist sehr empfindlich. Drehen Sie nicht weiter, sobald Sie einen kleinen Widerstand spüren. Sonst bricht der Einstellungsknauf ab.

Die Proben werden dann für 10 min bei 95 °C im PCR Gerät inkubiert. Führen Sie die den Hitze Inkubationsschritt mit dem Programm *heat block* durch. Nach Auswahl des Programms klicken Sie auf *upload*. Der Name Ihres Thermozyklers erscheint in einem Pop-Up Fenster. Durch Anklicken des „miniPCR [machine name]" wird der Inkubationsschritt gestartet. Da Ihr Gerät noch ausgeschaltet ist, wird oben links in Ihrem Versuchsfenster *no power* angezeigt. Schalten Sie Ihr Gerät jetzt ein. Die Inkubation kann am Monitor in Echtzeit verfolgt werden. Entnehmen Sie die PCR-Gefäße und kühlen Sie diese bei Raumtemperatur kurz ab, ca. 1 Minute.

Tipp

Um die Wartezeit optimal auszunutzen, können Sie bereits während des Inkubationsschritts mit der Vorbereitung der PCR-Reaktionen beginnen: frische PCR-Gefäße beschriften und *EZ-PCR Master Mix*™ vorlegen.

Zentrifugieren Sie dann Ihr PCR-Gefäß mit dem enthaltenen DNA-Extrakt für 90 Sekunden. Überführen Sie den Überstand in ein frisches PCR-Gefäß.

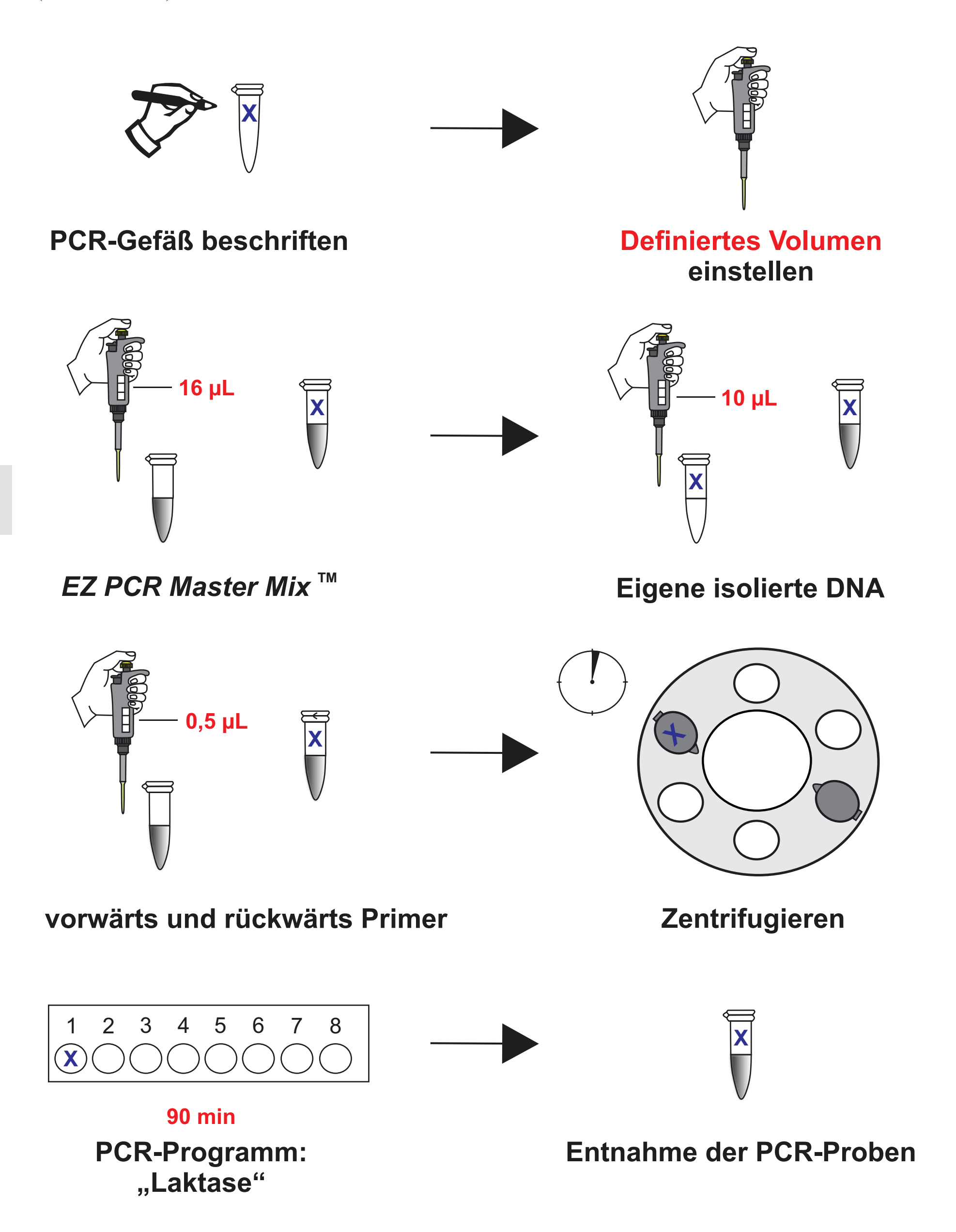
Wichtig
Die genomische DNA liegt nach diesem Schritt im Überstand vor. Das Pellet besteht nur aus den Zelltrümmern. Dieses Mal muss der Überstand weiterverwendet werden und das Pellet wird verworfen!

Wichtig
Vermeiden Sie das Berühren des Zellpellets mit der Pipettenspitze!

Wichtig
Eine Lagerung des DNA-Extrakts ist nicht möglich, daher muss die Probe sofort weiterverwendet werden.

9.2.2 PCR

Mit dem genomischen DNA-Extrakt wird im Anschluss eine PCR durchgeführt (◘ Abb. 9.5).



◘ **Abb. 9.5** **Durchführung der PCR mit eigenem DNA-Extrakt.** Pro Ansatz werden 16 µL *EZPCR Master Mix*™, 10 µL DNA-Extrakt und je 0,5 µL Primer (vorwärts und rückwärts) in ein PCR-Gefäß pipettiert. Nach kurzer Zentrifugation der Proben wird die PCR gestartet.

Tipp

Da dieses Modul einen hohen Schwierigkeitsgrad aufweist, können Sie pro Person zwei PCR-Ansätze durchführen. Das kann dabei helfen, Schwierigkeiten bei der Umsetzung aufzudecken, beispielsweise können Sie überprüfen, ob die PCR funktioniert hat, bevor Sie den Restriktionsverdau durchführen. In diesem Skript wird der Versuch ohne die Durchführung der PCR mit zwei PCR-Proben (Dubletten) beschrieben. In unserem Online-Material finden Sie die entsprechenden Anleitungen mit Flussdiagrammen für die Durchführung mit einer eigenen Kontrolle.

Jede*r Schüler*in bereitet ein weiteres PCR-Gefäß vor.
Folgende Reagenzien werden in das frische PCR-Gefäß pipettiert:

EZ PCR Master Mix ™	16 µL
DNA-Extrakt	10 µL
Vorwärts-Primer	0,5 µL
Rückwärts-Primer	0,5 µL
Gesamt	21 µL

Wichtig
Sorgfältiges Pipettieren beeinflusst den Erfolg des Versuchsergebnisses.

Wichtig
Sobald ein neues Reagenz pipettiert wird, muss die Pipettenspitze gewechselt werden.

Tipp

Werden mehrere Reagenzien in einen Ansatz pipettiert, empfiehlt sich, mit dem größten Volumen zu beginnen.

Das Gesamtvolumen jedes Ansatzes beträgt 21 µL. Mischen Sie die Reagenzien durch vorsichtiges auf und ab pipettieren. Achten Sie darauf, die PCR-Gefäße richtig zu verschließen, da es sonst im Thermozykler zu einer Verdunstung der Reaktionsflüssigkeit kommen kann. Die vorbereiteten PCR-Proben werden dann kurz zentrifugiert, ca. 3 Sekunden.

Wichtig
Achten Sie darauf, dass die Zentrifugen von den Schüler*innen korrekt beladen werden. Nur dann kann eine sichere Benutzung gewährleistet werden (► Abschn. 5.5).

Abschließend werden die PCR-Proben in den Thermozykler gestellt und der Deckel verschlossen. Überprüfen Sie, dass das Gerät ausgeschaltet ist.

Wichtig
Der Einstellungsknauf des Thermozyklers ist sehr empfindlich. Drehen Sie nicht weiter, sobald Sie einen kleinen Widerstand spüren. Sonst bricht der Einstellungsknauf ab.

Für die PCR wird das bereits gespeicherte Laktase-Protokoll verwendet (► Abschn. 5.3). Nach Auswahl des Programms klicken Sie auf *upload*. Der Name Ihres PCR-Geräts erscheint in einem Pop-Up Fenster. Die Parameter des PCR-Programms sind in ◘ Tab. 9.1 gezeigt, diese können Sie vorab speichern (► Abschn. 5.3). Da Ihr Gerät ausgeschaltet ist, wird oben links in Ihrem Versuchsfenster *no power* angezeigt. Schalten Sie Ihr Gerät jetzt ein. Die Thermozykler merken sich das zuletzt genutzte Programm. Durch das Anschalten des Geräts nach *upload* des Programms stellen Sie sicher, dass der Thermozykler kein anderes Programm startet. Die PCR-Reaktion kann am Monitor in Echtzeit verfolgt werden.

Tipp

Während die PCR-Reaktion läuft, können die Agarose-Gele vorbereitet werden. Allerdings bietet sich in diesem Fall auch die Wartezeit während des Restriktionsverdaus an, wodurch eine eventuelle Lagerung der fertigen Gele vermieden werden kann.

Die Dauer der 30 Zyklen beträgt 50 min (100 sec pro Zyklus, ◘ Tab. 9.1). Unter Berücksichtigung der *initial denaturation*, den Temperaturänderungen zwischen den Schritten sowie der *final extension* ist die PCR nach etwa 90 min abgeschlossen. Dies wird durch einen Klingelton angezeigt, auf dem Display erscheint *status completed*. Die PCR-Gefäße können jetzt aus dem Gerät entfernt werden.

◘ **Tab. 9.1 Einstellungen des PCR-Programms für Laktase.** Die mit * markierten Schritte geben einen PCR-Zyklus an. Die Gesamtzahl der Zyklen ist unter *number of cycles* angegeben

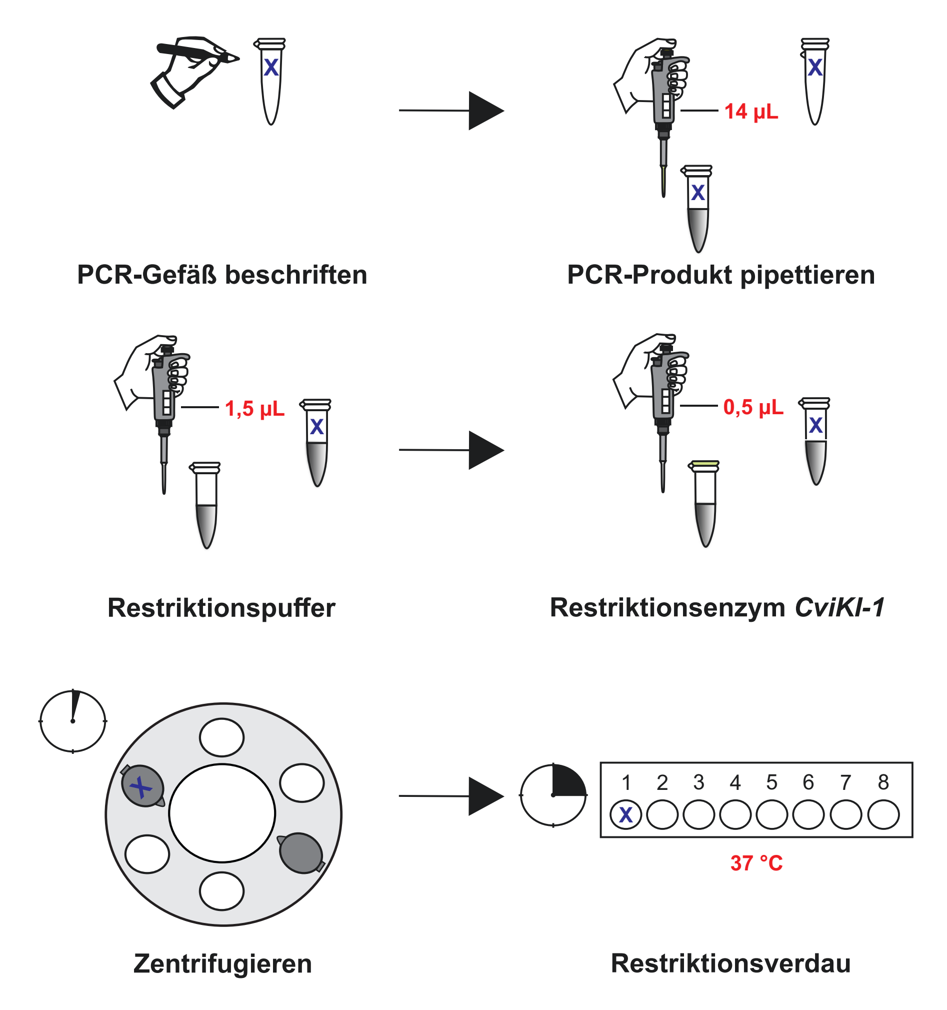
PCR-Programm	Temperatur [°C]	Zeit [s]
initial denaturation	95	120
denaturation *	95	40
annealing *	54	30
extension *	72	30
final extension	72	180
heated lid	ON	
number of cycles	30	

Vorsicht
Der Metalldeckel kann noch heiß sein.

Die Proben können nun direkt weiterverwendet oder im Kühlschrank gelagert werden.

9.2.3 Enzymatischer Restriktionsverdau

Mit den PCR-Proben wird ein Restriktionsverdau mit dem Restriktionsenzym *Cvi* Kl-1 durchgeführt (◘ Abb. 9.6). Die Erkennungssequenz von *CviKl-1* ist in ◘ Abb. 9.3 gezeigt.



◘ **Abb. 9.6 Durchführung des Restriktionsverdau mit *CviKl-1*.** Pro Ansatz werden je 14 µL PCR-Produkt mit 1,5 µL des Reaktionspuffers und 0,5 µL des Restriktionsenzyms *CviKI-1* versetzt. Die Proben werden durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren gut durchmischt. Nach kurzer Zentrifugation der Ansätze wird der Restriktionsverdau für 15 min bei 37 °C durchgeführt.

Wichtig
Eine Lagerung der verdauten Proben ist nicht möglich. Daher werden die verdauten PCR-Produkte anschließend sofort mittels Agarose-Gelelektrophorese analysiert.

Jede*r Schüler*in bereitet ein weiteres PCR-Gefäß vor. Folgende Reagenzien werden in das frische PCR-Gefäß pipettiert:

PCR-Produkt	14 µL
Restriktionspuffer	1,5 µL
Restriktionsenzym *CviKI-1*	0,5 µL
Gesamt	16 µL

Mischen Sie die Proben sorgfältig durch Auf- und Abpipettieren, dadurch wird die Restriktionseffizienz erhöht.

Zentrifugieren Sie die Proben kurz, ca. 3 Sekunden.

Abschließend werden die PCR-Proben in den Thermozykler gestellt und der Deckel verschlossen. Überprüfen Sie, dass das Gerät ausgeschaltet ist.

Wichtig
Der Einstellungsknauf des Thermozyklers ist sehr empfindlich. Drehen Sie nicht weiter, sobald Sie einen kleinen Widerstand spüren. Sonst bricht der Einstellungsknauf ab.

Die Proben werden dann für 15 min bei 37 °C im PCR Gerät inkubiert. Führen Sie den Wärme-Inkubationsschritt mit dem Programm *heat block* durch. Nach Auswahl des Programms klicken Sie auf *upload*. Der Name Ihres Thermozyklers erscheint in einem Pop-Up Fenster. Da Ihr Gerät noch ausgeschaltet ist, wird oben links in Ihrem Versuchsfenster *no power* angezeigt. Schalten Sie Ihr Gerät jetzt ein. Die Inkubation kann am Monitor in Echtzeit verfolgt werden.

Tipp

Um die Zeit optimal zu nutzen, können jetzt die Agarose-Gele vorbereitet werden, falls dies nicht schon während der PCR geschehen ist.

Die Analyse des Restriktionsverdaus erfolgt mittels Agarose-Gelelektrophorese.

9.2.4 Agarose-Gel-Herstellung und Gelelektrophorese

Die Herstellung eines 3,0 %-igen Agarose-Gels ist in ◘ Abb. 9.7 gezeigt. Sofern die Durchführung des Versuchs an einem Tag erfolgt, bietet es sich an, die Agarose-Gele bereits während der Durchführung der PCR zu gießen (► Abschn. 5.4.1). So kann die Zeit optimal ausgenutzt werden. In diesem Versuch kann auch die

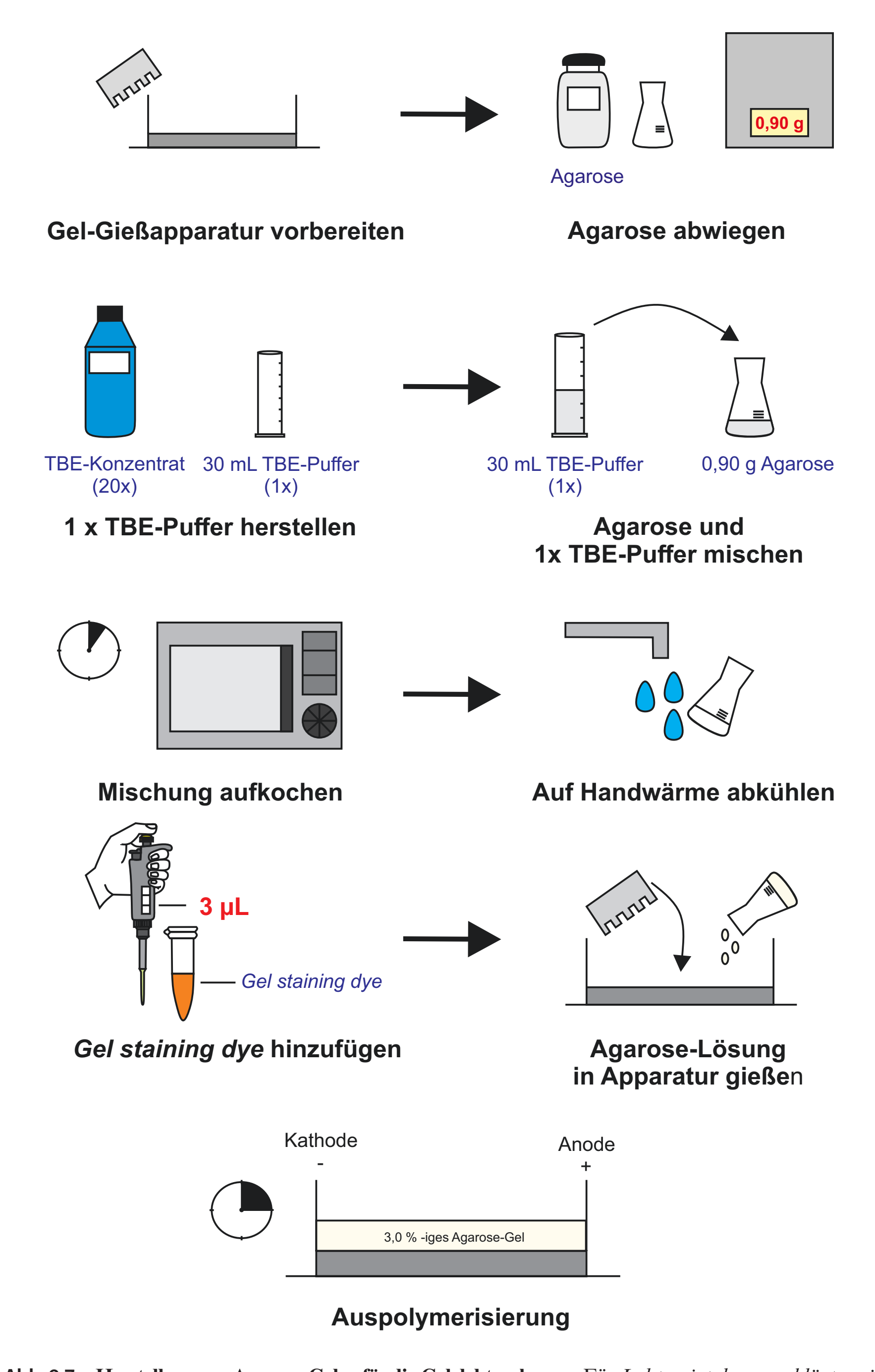


Abb. 9.7 Herstellung von Agarose-Gelen für die Gelelektrophorese. Für *Laktoseintoleranz schlägt zurück* werden 3,0 %-ige Agarose-Gele benötigt. Dafür werden 30,00 mL 1x TBE-Puffer mit 0,9 g Agarose versetzt. Durch kurzes Aufkochen entsteht eine homogene, klare Lösung, welche nach Abkühlen auf Handtemperatur mit 3 µL *gel staining dye* versetzt wird. Die Agarose-Lösung wird in die Gel-Gießapparatur überführt und der Probenkamm in die Halterung gesteckt. Die Auspolymerisierung dauert etwa 15 minuten

mögliche Lagerung der Gele relevant werden, sofern der Restriktionsverdau und die Agarose-Gelelektrophorese erst am Folgetag durchgeführt werden sollen.

Tipp

In diesem Versuch können acht Schüler*innen ihre Proben auf ein Gel aufgetragen. Zusätzlich wird pro Agarose-Gel ein DNA-Größenstandard aufgetragen.

Bereiten Sie eine saubere und trockene Gel-Gießapparatur vor und legen Sie einen Probenkamm bereit (► Abschn. 5.4).

Agarose	0,6 g
1x TBE-Puffer	30 mL
gel staining dye	3,0 µL

Wichtig

gel staining dye erst nach dem Abkühlen hinzugeben. Pro 10,0 mL Agarose-Lösung wird 1,00 µL *gel staining dye* benötigt.

Die Mischung wird zum Lösen der Agarose kurz in der Mikrowelle aufgekocht. Eine klare Lösung zeigt ein vollständiges Lösen der Agarose an. Um einen Siedeverzug zu vermeiden, kann der Vorgang in der Mikrowelle unterbrochen und der Erlenmeyerkolben mehrmals geschwenkt werden. Kühlen Sie die homogene Mischung unter fließendem Wasser bis zur Handwärme ab. Die Lösung wird dann in die Gel-Gießapparatur überführt. Stecken Sie den Probenkamm in die vorgesehene Halterung.

Tipp

Kleine Luftblasen im Gel können mit einer Pipettenspitze entfernt werden.

Nach 15–20 min ist das Gel verfestigt. Entfernen Sie den Probenkamm vorsichtig. Die Agarose-Gele können direkt für die Elektrophorese verwendet werden. Der letzte Schritt des Versuchs ist die Analyse der PCR-Proben mittels Agarose-Gelelektrophorese (◘ Abb. 9.8). Die Agarose-Gele können im Schlitten in die Elektrophoresekammern überführt werden.

1x TBE-Puffer zum Überschichten	30 mL
Pro DNA-Probe	14 µL
DNA-Größenstandard	12 µL

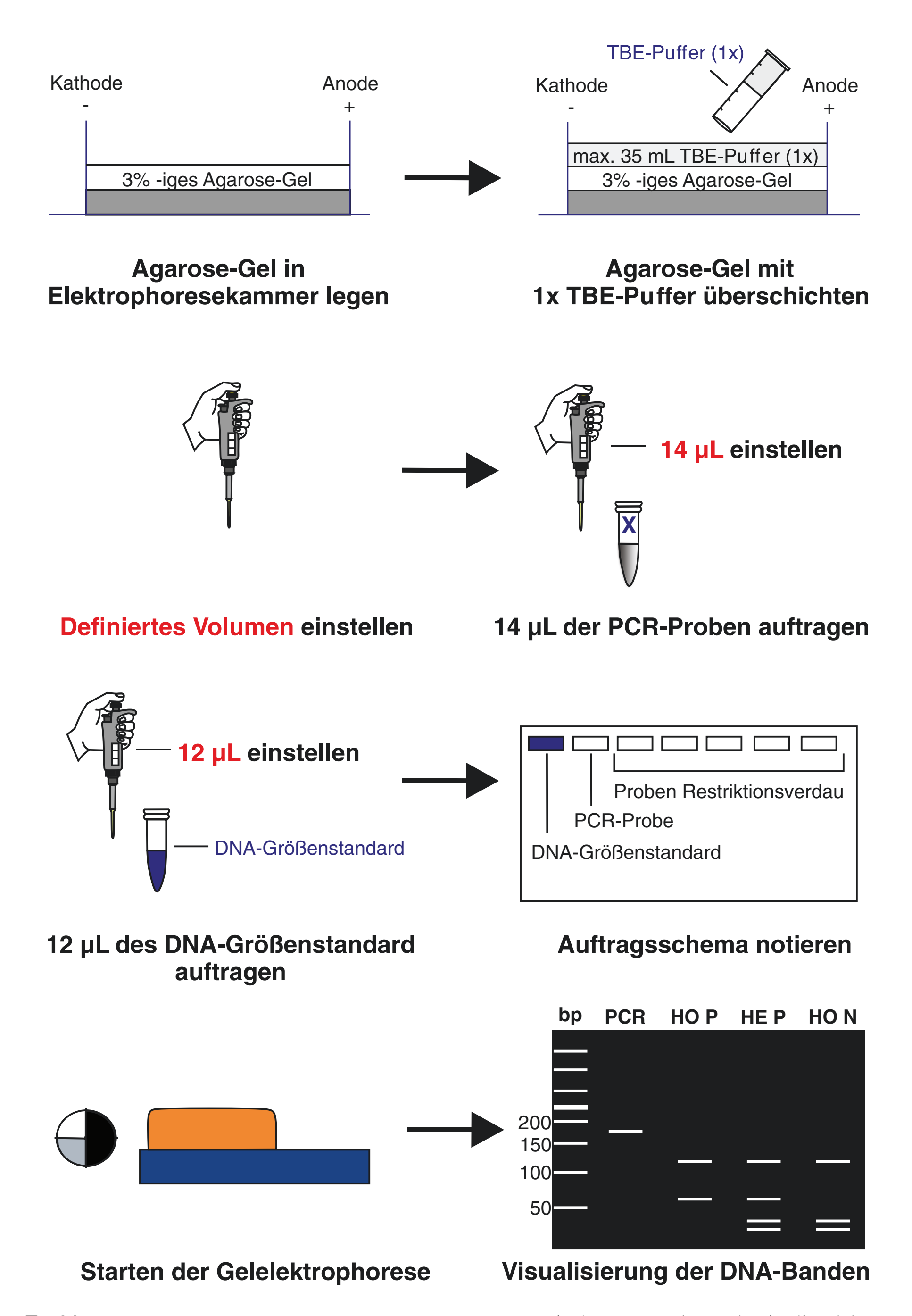


Abb. 9.8 Durchführung der Agarose-Gelelektrophorese. Die Agarose-Gele werden in die Elektrophoresekammern überführt und dort mit 1x TBE-Puffer überschichtet, bevor die PCR-Proben aufgetragen werden. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe eines DNA-Größenstandards. Bp = DNA-Größenstandard 50 bp, PCR = PCR Produkt, HO P = Homozygot persistent, HE P = Heterozygot persistent, HO N = Homozygot nicht-persistent

Wichtig

Vor dem Auftragen der Proben werden die Agarose-Gele jeweils mit 30 mL 1x TBE-Puffer überschichtet. Nutzen Sie nie mehr als 35 mL 1x TBE-Puffer zum Überschichten der Gele in der Elektrophoresekammer, da der Puffer sonst überläuft.

Wichtig

Pro Agarose-Gel können acht PCR-Proben und ein DNA-Größenstandard aufgetragen werden. Es empfiehlt sich, den DNA-Größenstandard mittig auf das Agarose-Gel aufzutragen.

Wichtig

Berühren Sie mit Ihrer Pipettenspitze dabei nicht den Boden der Probenkammer, da diese sonst beschädigt wird (► Abschn. 5.4.2).

Wichtig

Notieren Sie sich die Reihenfolge, in der Sie die Proben aufgetragen haben.

Verschließen Sie die Elektrophoresekammer. Drücken Sie den *run*-Knopf und führen Sie die Elektrophorese für 30–45 min durch. Achten Sie darauf, dass die Banden des DNA-Größenstandards im Bereich 50–200 bp gut aufgelöst, d. h. gut voneinander getrennt sind. Nach ca. 30–45 min ist die Gelelektrophorese abgeschlossen. Das Gerät kann jetzt ausgeschaltet werden.

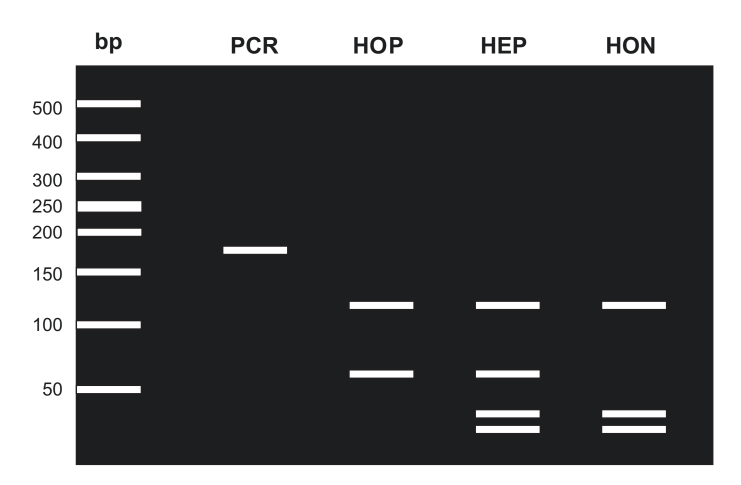
Tipp

Die Auftrennung der DNA Proben kann durch Betätigung des *illuminator*-Knopfs auf dem Gerät in Ist-Zeit verfolgt werden. Wird das Licht zu häufig während der Auftrennung angeschaltet oder dauerhaft angelassen, kann das zum Ausbleichen der Proben führen.

Drücken Sie nach Beendigung der Elektrophorese den *illuminator*-Knopf und dokumentieren Sie Ihr Ergebnis. Die Agarose-Gele können direkt mit dem Smartphone fotografiert werden.

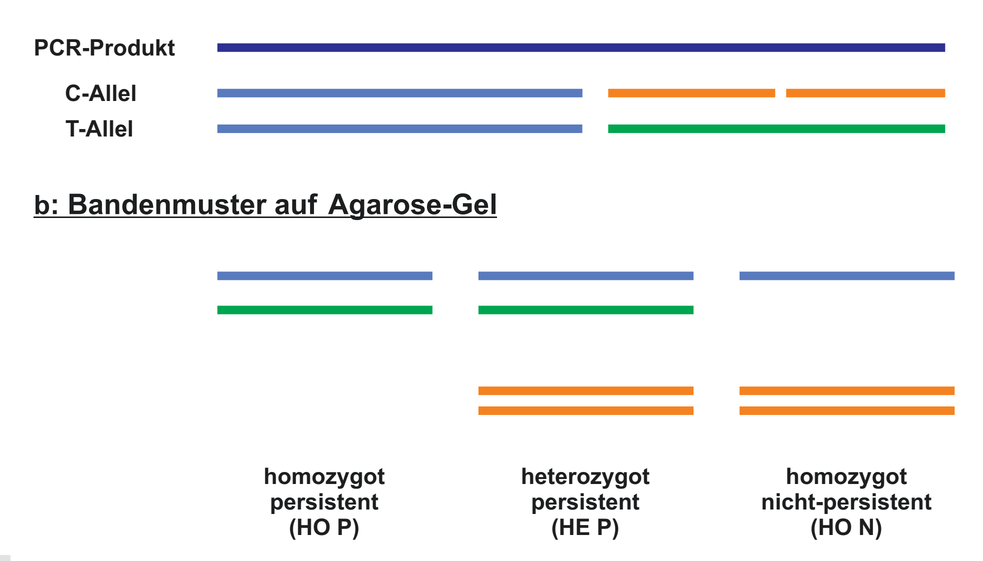
9.3 Ergebnisinterpretation

In diesem letzten Schritt können die DNA-Banden im Agarose-Gel analysiert werden. Je kleiner die DNA-Fragmente sind, desto schneller wandern sie im Agarose-Gel nach unten. Große DNA-Fragmente werden durch die Agarose-Matrix stärker zurückgehalten und sind nach der Gelelektrophorese demnach weiter oben im Agarose-Gel zu finden (► Abschn. 3.2). Durch den Vergleich der DNA-Fragmente mit den jeweiligen definierten Banden des DNA-Größenstandards ist eine Abschätzung der Basenpaarlänge dieser Fragmente möglich. Der Vergleich der Laufweiten der eigenen DNA-Probe mit dem erwarteten Bandenmuster ermöglicht dann eine Interpretation des Ergebnisses.



■ **Abb. 9.9 Schematische Darstellung des 3 %-igen Agarose-Gels.** Die Bandenmuster der drei möglichen Genotypen sowie die erwartete Lauflänge des PCR-Produkts sind gezeigt. Bp = DNA-Größenstandard 50 bp, PCR = PCR Produkt, HO P = Homozygot persistent, HE P = Heterozygot persistent, HO N = Homozygot nicht-persistent

In dem untersuchten Abschnitt liegen drei mögliche Schnittstellen für das Restriktionsenzym *CviKl-1* vor (■ Abb. 9.9). Von diesen sind zwei invariant und werden immer von dem Restriktionsenzym *CviKI-1* geschnitten. Eine dieser Schnittstellen liegt innerhalb der Primersequenz. Diese Schnittstelle wurde beim Primerdesign berücksichtigt und entfernt, indem ein SNP manuell eingefügt wurde. Die andere invariante Schnittstelle bleibt bestehen. Die analytisch wichtige Schnittstelle umfasst den SNP -13.910:C>T, auf dessen Grundlage eine Aussage über die **genetische Prädisposition** für Laktase-Persistenz getroffen werden kann. Da die Mutation von Cytosin zu Thymin die Erkennungssequenz von *CviKI-1* zerstört, ist in diesem Fall eine Spaltung durch das Restriktionsenzym nicht möglich. Bleibt die variable Restriktionsschnittstelle an Position -13.910 bp intakt, liegt also kein SNP vor, kommt es zu einem sehr kleinen DNA-Fragment von unter 40 bp. In ■ Abb. 9.10 sind die Schnittstellen noch einmal grafisch visualisiert. Allgemein bezeichnet man zur Unterscheidung von SNP-Allelen diese entsprechend der vorliegenden Nukleobase. In diesem Fall wäre das C-Allel (Cytosin), das Nicht-Persistenz Allel und das T-Allel (Thymin) das Persistenz-Allel. Hier können also zwei Fälle unterschieden werden: (1) Der SNP ist vorhanden und das Restriktionsenzym kann nicht schneiden oder (2) Der SNP ist nicht vorhanden und das Restriktionsenzym kann schneiden. In beiden Fällen existiert eine weitere invariante Schnittstelle. Daraus resultieren insgesamt drei Fälle, die auf dem Gel unterschieden werden können (■ Tab. 9.2). Da Laktoseunverträglichkeit oder -intoleranz ein sehr komplexes Krankheitsbild ist, das sich nicht alleine aus der Genetik, sondern auch aus Umweltfaktoren (Nahrungsmenge, Darmflora etc.) zusammensetzt (▶ Abschn. 9.5.4), kann nur auf Basis des im Gel abgebildeten Genotyps keine eindeutige Aussage über den Phänotyp getroffen werden.



9

Abb. 9.10 Grafische Darstellung der Schnittstellen von *CviKI-1* im PCR-Produkt. a Schematische Darstellung des Gens mit seinen möglichen Allelen und Schnittstellen. Auf dem C-Allel ist der SNP nicht vorhanden, entsprechend kann *CviKI-1* zweimal schneiden. Im Falle des T-Allels ist der SNP vorhanden und *CviKI-1* kann nur einmal schneiden. Der Bereich der invarianten Schnittstelle ist blau dargestellt, die Fragmente bei vorhandenem C-Allel orange und bei vorhandenem T-Allel grün. **b** Schematische Darstellung des Agarose-Gels mit gleicher Farbkodierung. Dies verdeutlicht, wie sich die geschnittenen Fragmente während der Agarose-Gelelektrophorese verhalten

Wichtig

In Abhängigkeit der Güte des Agarose-Gels kann es sein, dass die kleinen Banden bei ca. 30 bp nicht von den Primerdimeren zu unterscheiden sind. In dem Fall ist dennoch eine Aussage über den Genotyp möglich, da für eine erfolgreiche Laktose-Verdauung eine 50 %-ige Genexpression der Laktase ausreicht. Die Ergebnisse werden dann wie folgt interpretiert:

Laktase-persistent (homozygot/heterozygot):	**Zwei** Banden bei ~120 und ~60 bp
Laktase-nicht-persistent (homozygot):	**Eine** Bande bei ~120

Der Erfolg des Versuchs kann maßgeblich durch Vermeiden einiger Fehler gesteigert werden. Diese werden bei der Vorstellung der einzelnen Methoden spezifisch erläutert (▸ Kap. 5).

Eine Besonderheit dieses Moduls ist die Verwendung eines separaten Puffers für das Restriktionsenzym. Achten Sie darauf, dass Schüler*innen nicht nur das Restriktionsenzym, sondern auch den Puffer pipettieren, sowie ein besonderes Augenmerk auf die Volumina legen, da das Mischverhältnis entscheidend für die Reaktionseffizienz ist.

Tab. 9.2 Interpretation des Versuchsergebnisses auf der Ebene des Genotyps und Phänotyps

Versuchsergebnis	Genotyp	Phänotyp
PCR-Produkt (180 bp)	Unbekannt (eine Hypothese kann anhand des Phänotyps individuell abgeleitet werden und erst auf der Basis des Restriktionsverdaus verifiziert oder falsifiziert werden)	Selbstbericht einer Testperson
Produkte *[1] des Restriktionsverdaus		
2 Banden (120 bp, 60 bp)	TT (homozygot)	Laktase-persistent
3 Banden (120 bp, 30 bp, 25 bp)	tt (homozygot)	Laktase-nicht-persistent
4 Banden (120 bp, 60 bp, 30 bp, 25 bp)	Tt (heterozygot)	Laktase-persistent*[2]

*[1]Falls die Gele nicht hochauflösend genug sind, kann es sein, dass einerseits die Banden bei 30 und 25 bp zusammenfallen oder sich mit den **Primerdimer**en überlappen. Eine Aussage über die Persistenz kann dennoch getroffen werden, denn *[2] 50 % der Genexpression reichen aus, um Laktose vollständig im Darm zu spalten. Dabei sind trotzdem die o. g. Einschränkungen zu beachten

9.4 Checkliste

Im Folgenden finden Sie eine Auflistung aller notwendigen Reagenzien und Lösungen, sowie Hinweise zu deren Herstellung. Für einen reibungsfreien Ablauf der praktischen Einheit in Ihrem Unterricht können Sie mehrere Vorbereitungen vornehmen. Genauere Informationen dazu entnehmen Sie bitte ▶ Kap. 5. Diese sind für ▶ Kap. 6, 7, 8 und 9 identisch. Die Angaben und Empfehlungen in diesem Kapitel werden häufig in Gruppen angegeben. Dabei entspricht eine Gruppe zwei Schüler*innen. Sie sind darauf ausgerichtet, den Versuch pro Person einmal vollständig durchzuführen. Sie können individuell entscheiden, mit welcher Gruppenstärke Sie die Versuche durchführen wollen. Obwohl alle Schüler*innen mit ihrer eigenen Probe arbeiten, empfiehlt es sich, mindestens Zweier-Gruppen einzuteilen. Dadurch kann an Geräten gespart werden und eventuell verringern Teams die Fehlerrate.

9.4.1 Reagenzien

- DPX™ DNA extraction buffer (miniPCR™, USA)
- *EZ PCR Master Mix™ (5x), Load Ready™* (miniPCR™, USA): PCR-Puffer, Mg^{2+} Ionen, *Taq*-DNA-Polymerase, dNTPs (Deoxynukleosidtriphosphate), DNA-Auftragspuffer, 5x konzentriert
- NaCL-Lösung (0,9 %)
- *Cvi* KI-1 (NEB, Deutschland): Restriktionsenzym (5' RG^_CY 3')
- CutSmart® Buffer (NEB, Deutschland)
- $\text{Primer}_{\text{vorwärts:}}$ 5´ – GAGTGTAGTTGTTAGACGGAGAC – 3´
- $\text{Primer}_{\text{rückwärts:}}$ 5´- GGAGGAGAGTTCCTTTGAGTGCCAG – 3´

In ◘ Tab. 9.3 finden Sie Angaben, wie Sie die Reagenzien an eine Gruppe ausgeben können.

Wichtig
Das Restiktionsenzym *CviKI-1* wird nicht aliquotiert, da sonst zu große Verluste entstehen. Ein Kurs teilt sich ein Eppendorf-Reaktionsgefäß.

Wichtig
Für die Extraktion der genomischen DNA mit Mundspülung werden zusätzlich 25 mL 0,9 %-ige Natriumchlorid-Lösung pro Person benötigt.

9.4.2 TBE-Puffer

Für die Agarose-Gel-Herstellung und die Agarose-Gelelektrophorese müssen Sie 1x TBE-Puffer herstellen. ◘ Tab. 9.4 zeigt, wie Sie abhängig vom Konzentrat 1x TBE-Puffer herstellen. Bei der Herstellung wird destilliertes Wasser verwendet.

◘ **Tab. 9.3 Angabe über Volumina der Reagenzien zur Ausgabe an eine Gruppe**

Reagenz	Aliquot	Volumen [µL]
DPX™ DNA extraction buffer	1	110
$\text{Primer}_{\text{vorwärts}}$	1	1,5
$\text{Primer}_{\text{rückwärts}}$	1	1,5
EZ PCR Master Mix™	1	35
CutSmart® Buffer	1	3,5

Tab. 9.4 Herstellung von 1x TBE-Puffer unterschiedlicher Volumina

Reagenz	Volumen Konzentrat [mL]	Volumen dest. Wasser [mL]
TBE 10x konzentriert	10	90
TBE 20x konzentriert	5	95
TBE 10x konzentriert	100	900
TBE 20x konzentriert	50	950
Alternativ kann auch TAE-Puffer verwendet werden		

Wichtig
Pro Agarose-Gel werden 30 mL 1x TBE-Puffer benötigt. Für die Agarose-Gelelektrophorese werden weitere 30 mL 1x TBE als Laufpuffer verwendet. Hierzu wird jedes Agarose-Gel vor dem Auftragen der Proben mit 30 mL 1x TBE-Puffer überschichtet.

Entsprechend ist die benötigte Menge an 1x TBE-Puffer direkt von der Menge benötigter Gele abhängig. Wie Sie bei der Berechnung vorgehen und nähere Informationen zur individuell benötigten Menge an 1x TBE-Puffer finden Sie unter ► Abschn. 9.4.3.

Wichtig
Der 1x TBE-Puffer kann bei Raumtemperatur gelagert werden. Eine Verwendung ist so lange möglich, wie keine Flocken in der Lösung erkennbar sind.

9.4.3 Agarose-Gel-Herstellung

Für die Herstellung der Agarose-Gele können Sie sich an Tab. 9.5 orientieren.

- Agarose für DNA-Elektrophorese (SERVA, Deutschland)
- TBE-Puffer (SERVA, Deutschland): Tris, EDTA-Na_2-Salz, Borsäure
- DNA-Stain GelGreen® *nucleic acid gel stain* (miniPCR™, USA): 10,000x in Wasser
- DNA-Größenstandard 100 bp (miniPCR™, USA): 13 Banden im Bereich 100–3000 bp
- DNA-Größenstandard 50 bp (miniPCR™, USA):8 Banden im Bereich 50–500 bp

Alternativ kann TAE-Puffer (Tris, EDTA-Na_2-Salz, Essigsäure; SERVA, Deutschland) verwendet werden.

Tab. 9.5 Angaben zur Herstellung eines 3 %-igen Agarose-Gels

Konzentration [%]	Agarose [g]	TBE-Puffer (1x) [mL]	DNA-Stain * [µL]
3	0,9	30	3

* Der DNA Stain wird im Verhältnis 1:10.000 zum verwendeten Puffer eingesetzt

Tipp

Für den schulischen Gebrauch empfiehlt sich, TBE-Puffer zu verwenden:
- Die vollständige Auspolymerisierung des Agarose-Gels verläuft im Vergleich zur Verwendung von TAE-Puffer schneller.
- Agarose-Gele mit TBE-Puffer sind bei der Handhabung weniger empfindlich.

Wichtig
Achten Sie darauf, dass sich die Agarose für die DNA-Analyse mittels Elektrophorese eignet.

Wichtig
Tragen Sie Handschuhe bei der Herstellung und Beladung der Agarose-Gele.

Bei diesem Versuch können pro Gel acht Proben und ein DNA-Größenstandard aufgetragen werden. Entsprechend können sich jeweils zwei Gruppen ein Gel teilen.

Die Anzahl der benötigten Agarose-Gele berechnet sich wie folgt:

$$Anzahl\ Gele = \frac{Gesamtanzahl\ Proben}{8} \tag{9.1}$$

Beispielrechnung:

Bei einer Klasse mit 24 Schüler*innen werden drei Gele benötigt.

Die nötige Menge an TBE-Puffer (1x konzentriert) in mL lässt sich wie folgt berechnen:

$$TBE_{Puffer}\ mL = \left(Anzahl\ Gele \times 60\,mL\right) + 60\,mL \tag{9.2}$$

Bei drei Gelen benötigen Sie demnach 240 mL einer einfach konzentrierten TBE-Puffer-Lösung. In dieser Angabe ist die Menge an TBE-Puffer für das Gießen der sechs Agarose-Gele sowie für die Verwendung als Laufpuffer in der Agarose-Gelelektrophorese einkalkuliert. Zudem werden bei dieser Berechnung zwei Fehlversuche bei der Agarose-Gel-Herstellung mitberücksichtigt. Anhand der Beispiel-

rechnung würden Sie 300 mL 1x TBE-Puffer herstellen. Ausgehend von einem 10x TBE-Konzentrat würden Sie für die Herstellung 30 mL 10x TBE-Konzentrat mit 270 mL destilliertem Wasser versetzten, um so Ihren 1x TBE-Puffer zu erhalten. Der Rechenweg ist nachfolgend dargestellt. Zur Herstellung des 1x TBE-Puffers lässt sich die benötigte Menge an TBE-Konzentrat in mL wie folgt berechnen:

$$Menge\,TBE_{Konzentrat}\;mL = \frac{Gesamtvolumen\,1x\,TBE - Puffer\;mL}{Faktor\;des\;Konzentrats} \tag{9.3}$$

Für unser Beispiel ergeben sich so:

$$Menge\;10x\,TBE_{Konzentrat}\;mL = \frac{300\,mL}{10} = 30\,mL \tag{9.4}$$

Die Menge an destilliertem Wasser in mL ergibt sich dann wie folgt:

$$Menge\;H_2O_{dest.}\;mL = Gesamtvolumen\;1x\,TBE - Puffer\;mL - Menge\,TBE_{Konzentrat}\;mL \tag{9.5}$$

Bezogen auf unser Beispiel ergibt sich:

$$Menge\;H_2O_{dest.}\;mL = 300\,mL - 30\,mL = 270\,mL \tag{9.6}$$

9.5 Fachwissenschaftlicher Hintergrund

Die Thematik der Laktose-Verdauung ist sehr komplex und benötigt eine Betrachtung des Phänomens auf verschiedenen Ebenen. In diesem Kapitel haben wir für Sie alle relevanten Informationen zusammengestellt, die zum Verständnis des vorgeschlagenen Versuchs wichtig sind.

9.5.1 Das Enzym Laktase-Phlorizin-Hydrolase (LPH) spaltet Laktose

Laktose kommt mit Ausnahme einiger mariner Arten ausschließlich in der Milch von Säugetieren vor, und stellt für Neugeborene die einzige Kohlenhydratquelle dar (Ranciaro et al., 2014). Laktose kann als Disaccharid die Darmwand nicht passieren, entsprechend müssen neugeborene Säugetiere in der Lage sein diese abzubauen (Ranciaro et al., 2014; Ségurel & Bon, 2017). Dies geschieht im Dünndarm durch das Enzym **Laktase-Phlorizin-Hydolase (LPH)**, welches Laktose hydrolytisch spaltet (Heine et al., 2017). LPH gehört zu den Endoenzymen (Heine et al., 2017). Es ist über einen hydrophoben C-terminalen Bereich in der Zellmembran verankert. Der N-Terminus mit den enzymatisch aktiven Domänen liegt außerhalb der Zelle. LPH besitzt eine interne Homologie und zwei aktive Zentren

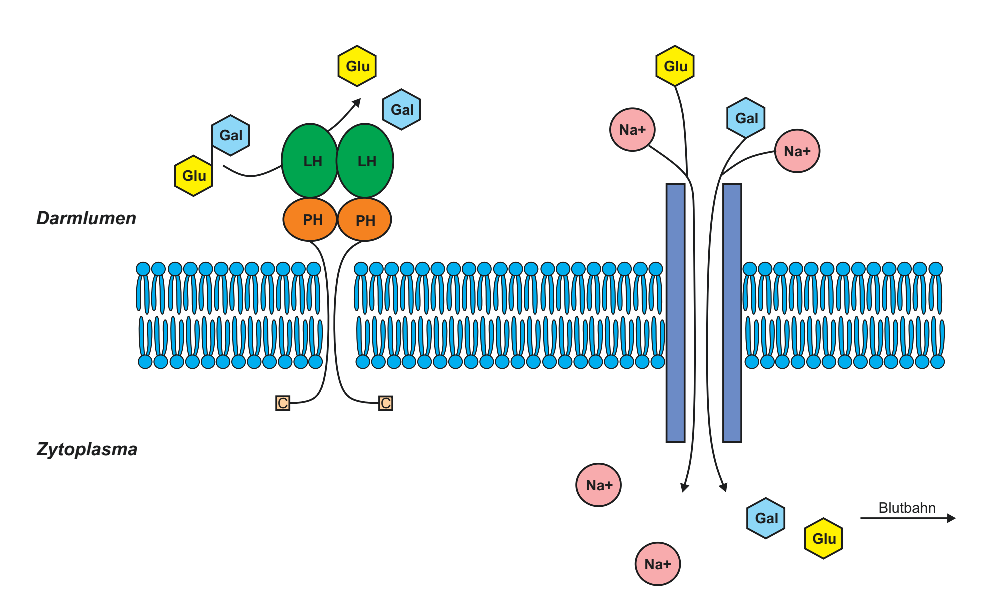


Abb. 9.11 Hydrolytische Spaltung der Laktose durch Laktase-Phlorizin-Hydrolase im Dünndarm. Darstellung von LPH mit der Verankerung in die Enterozytenmembran und des Transports der Monosaccharide Glukose und Galaktose in das Zytoplasma

(Norén & Sjöström, 2001): Das Laktase-Zentrum spaltet hydrophile ***β*-Glykosid**e, zu denen die Laktose zählt (Abb. 9.11). Das Phlorizin-Hydrolase-Zentrum spaltet Phlorizin und hydrophobe *β*-Glykoside mit großen Alkylketten (Höffeler, 2009; Mantei et al., 1988; Norén & Sjöström, 2001; van Wering et al., 2004). Phlorizin ist ein bitterer Naturstoff, der in Rinde, Wurzeln und Stielen vorkommt, u. a. in der Familie der Rosaceae, zu der Äpfel, Birnen und Kirschen zählen (Ranciaro et al., 2014). Es wird als Naturheilmittel bei Fieber und Infektionskrankheiten, wie z. B. Malaria, eingesetzt (Ranciaro et al., 2014).

LPH wird ausschließlich in den absorptiven **Enterozyt**en des Dünndarms gebildet (van Wering et al., 2004). Sie sind hochspezifische Darmzellen, die spezialisierte Proteine exprimieren, welche essenziell für die Darmfunktion sind (Leseva et al., 2018; van Wering et al., 2004). Die Expression von LPH folgt einem strikten topografischen Muster und ist damit „positionell" reguliert (Baffour-Awuah et al., 2015; van Wering et al., 2004). Das Vorkommen von LPH ist dabei am höchsten im Dünndarm und am niedrigsten im Dickdarm (Baffour-Awuah et al., 2015; Leseva et al., 2018).

Bereits ab der achten Schwangerschaftswoche ist die Aktivität von LPH in der **Mucosa** des Embryos nachweisbar (Höffeler, 2009). Diese steigert sich bis zur 34. Woche und erreicht ihr Maximum mit der Geburt (Lomer et al., 2008). Bei allen

untersuchten Landsäugetieren reduziert sich die LPH-Produktion mit Ende der Stillzeit (Höffeler, 2009; Norén & Sjöström, 2001).

Gelangt unverdaute Laktose in den Dickdarm, kann sie dort von Milchsäurebakterien umgesetzt werden. Dabei handelt es sich um grampositive Bakterien, v. a. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostic*, *Pediococcus* (Lomer et al., 2008). Diese fermentieren Laktose zu Laktat, Methan, Wasserstoff und kurzkettigen Fettsäuren. In diesem Zusammenhang kann Laktose als Prebiotik betrachtet werden, da Milchsäurebakterien der Symptomatik von LNP entgegenwirken, indem sie die Fermentationsprodukte zur Reabsorption zur Verfügung stellen (Heine et al., 2017; Lomer et al., 2008). Allerdings liegt der optimale pH-Wert bakterieller Laktase bei 6–8, was dem pH-Wert des Dünndarms entspricht. Im Dickdarm sinkt der pH-Wert bis auf 4, wodurch mehr Laktose als Disaccharid verbleibt (Lomer et al., 2008). Dadurch erhöht sich der osmotische Sog und Wasser sowie Elektrolyte strömen in den Darm. Dies führt zu dünnen Stühlen und Diarrhö (Höffeler, 2009).

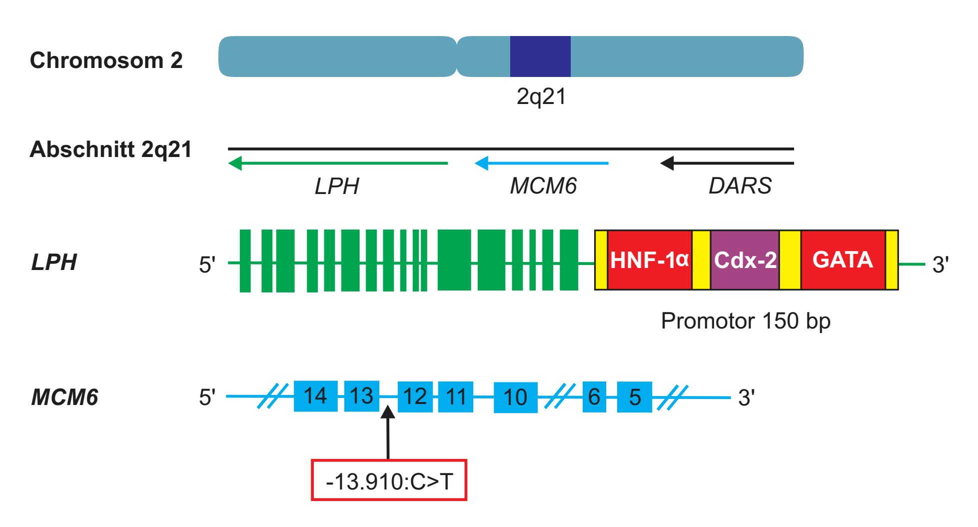
Außerdem können im Dickdarm auch Monosaccharide wie Glukose und Galaktose nicht aufgenommen werden, sondern werden dort von anderen Bakterien zu kurzkettigen Fettsäuren, Methan, Wasserstoff und Kohlenstoffdioxid verstoffwechselt. Dadurch wird das symptomatische Spektrum stark erweitert, u. a. sind Flatulenz und Bauchkrämpfe die Folge (Heine et al., 2017; Höffeler, 2009; Lomer et al., 2008).

9.5.2 Genetische Grundlagen

Lange wurde nach einem Unterschied innerhalb der Gensequenz von LPH gesucht, diese ist allerdings bei LP (Laktase-Persistenz) und LNP (Laktase-Nicht-Persistenz) gleich. Entsprechend kann der Funktionsverlust von LPH im Alter nicht für die phänotypische Ausprägung der Laktoseintoleranz verantwortlich sein (Norén & Sjöström, 2001).

Das *LCT*-Gen (Laktase-Phlorizin-Hydrolase-Gen), welches LPH kodiert, befindet sich auf dem humanen Chromosom 2 im Abschnitt q21. In direkter Nähe liegen zwei Gene: *MCM6* und *DARS* (Aspartyl-tRNA-Synthetase). *MCM6* ist in die Initiation der DNA-Replikation involviert, seine Expression ist nicht auf den Dünndarm begrenzt (Jensen et al., 2011). Im intronischen Bereich von *MCM6* liegen mehrere regulatorische Elemente, unter anderem ein *cis*-aktiver *Enhancer* in Intron 13, der Einfluss auf den *LCT*-Promotor hat (Enattah et al., 2008; Lewinsky et al., 2005; Liebert et al., 2016).

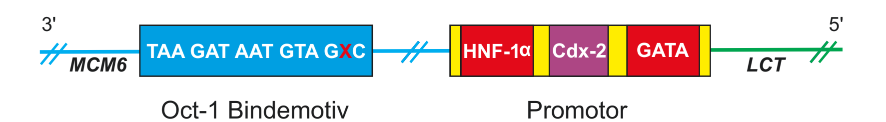
◘ Abb. 9.12 zeigt einen schematischen Überblick des **Genlocus** von LPH mit seinen regulatorischen Elementen. Die Transkription von LPH wird von einem



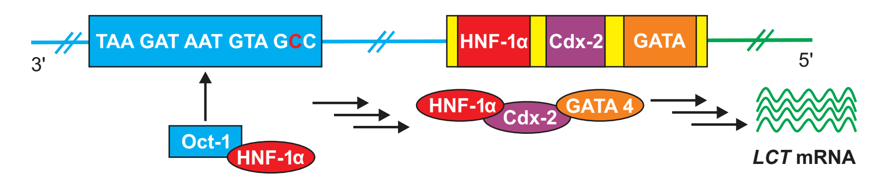
■ **Abb. 9.12 Genlocus der Laktase-Phlorizin-Hydrolase (LPH).** Das *LCT*-Gen ist auf dem humanen Chromosom 2 in Abschnitt q21 lokalisiert. Es wird zum Zentromer hin transkribiert und besteht aus 17 **Exon**s. Die Transkription wird von einem 150 bp langen Promotor reguliert, der mehrere hochkonservierte Bindestellen für Transkriptionsfaktoren (TFs) besitzt. Der 2002 entdeckte SNP -13.910:C>T liegt in Intron 13 von *MCM6* und korreliert mit der andauernden LPH-Expression im Erwachsenenalter (roter Kasten)

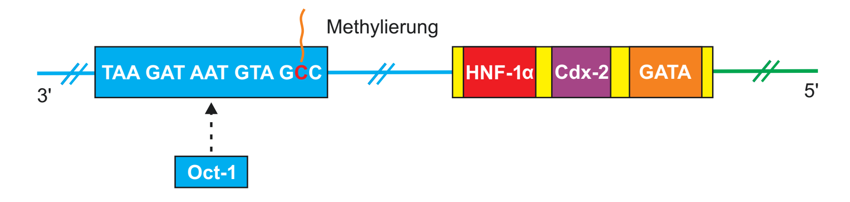
150 bp langen Promotor moduliert, welcher deutlich vor dem *LCT*-Startcodon positioniert ist (■ Abb. 9.12 und 9.13). Dieser Promotor besitzt mehrere hoch konservierte Bindestellen für verschiedene Transkriptionsfaktoren: HNF-1*α* (Hepatic Nuclear Factor), Cdx-2 (Caudal Type Homeobox) und GATA (Name analog zum Sequenz-Motiv). In Säugetieren aktivieren Cdx-2, GATA4/6 und HNF-1*α* das Gen synergistisch (Leseva et al., 2018).

Innerhalb des *cis*-aktiven *Enhancers* liegt ein nicht-klassisches Sequenz-Motiv für den Transkriptionsfaktor (TF) Oct-1, welches 5'-seits von -13.910: C>T lokalisiert ist (■ Abb. 9.13) (Lewinsky et al., 2005; Olds et al., 2011). Oct-1 reguliert zahlreiche stoffwechsel- und gewebespezifische Gene durch die Rekrutierung von Co-Aktivatoren (Höffeler, 2009; Segil et al., 1991). Oct-1 interagiert direkt mit HNF-1*α*, bindet stärker an das T-Allel und steigert *in vitro* die Expressionsrate etwa um das Zehnfache, da er durch seine Rekrutierung die synergistische Aktivierung des *LCT*-Promotors unterstützt (Enattah et al., 2008; Höffeler, 2009; Lewinsky et al., 2005; Obermayer-Pietsch et al., 2004). LP ist damit das Ergebnis einer gesteigerten *Enhancer*-Aktivität, die durch Oct-1 gesteuert wird (Lewinsky et al., 2005). Es wird angenommen, dass die erhöhte Promotoraktivität ermöglicht, LPH auch im Erwachsenenalter transkribieren zu können (Lewinsky et al., 2005;

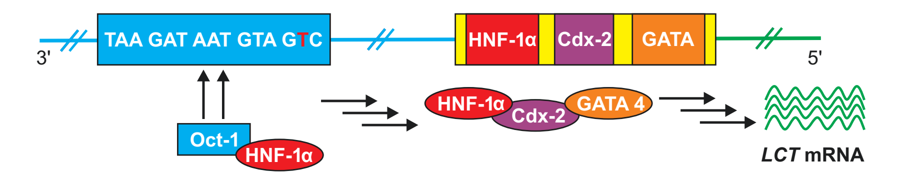


LNP - Wildtyp:





LP - SNP:



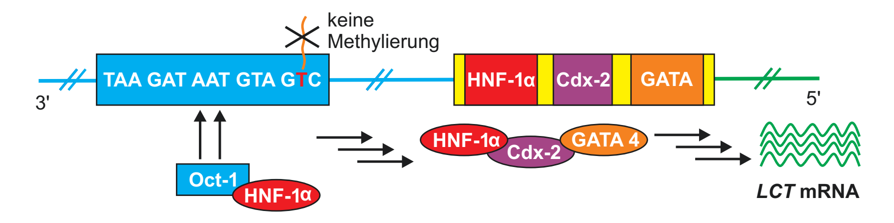


Abb. 9.13 Oct-1 gesteuerte TF-Rekrutierung und Einfluss des SNP auf die Methylierung des *cis*-aktiven *Enhancers*. Der *cis*-aktive *Enhancer* innerhalb von *MCM6* enthält eine Oct-1-Bindestelle 5'-seits des SNP -13.910:C>T. Oct-1 rekrutiert durch seine physische Interaktion mit HNF-1*α* weitere TFs und trägt zur synergistischen Aktivierung des *LCT*-Promotors bei. Die Affinität von Oct-1 an das Wildtyp-C-Allel ist schwächer (gestrichelter schwarzer Pfeil) als seine Affinität an das T-Allel (schwarzer Doppelpfeil). Über die Zeit wird die CpG-Stelle methyliert und Oct-1 kann nicht mehr binden. Liegt allerdings das T-Allel vor, so ist die CpG-Stelle zerstört und kann nicht methyliert werden, wodurch Oct-1 weiter TFs rekrutieren kann und LPH weiter transkribiert wird

Tab. 9.6 Übersicht der Genotypen des SNP -13.910:C>T. Genotypen des europäischen SNP an Stelle -13.910 mit assoziierten Phänotypen und dem prozentualen Anteil in der Bevölkerung (Haberkorn et al., 2012; Kuokkanen et al., 2003)

Genotyp	Phänotyp	Bevölkerungsanteil [%]
Homozygot CC	LNP – Laktase-nicht-persistent	21 – 34
heterozygot CT	Intermediat – Laktase-persistent – (moderat) laktosetolerant	38 – 44
homozygot TT	LP – Laktase-persistent – laktosetolerant	26 – 35

Liebert et al., 2016). Tab. 9.6 zeigt eine Übersicht der möglichen Genotypen und deren Auswirkungen auf den Phänotyp. Alle drei Genotypen unterscheiden sich signifikant in folgenden Punkten:

(1) Die Expressionslevel der Allele unterscheiden sich. Bei Homozygoten ist das Expressionslevel beider Allele identisch. Im Gegensatz dazu liegt die Expression des persistenten T-Allels von heterozygoten Individuen bei 92 % und ist damit über zehnmal höher als die Expression des nicht-persistenten C-Allels mit Cytosin. Damit sind Heterozygote Laktase-persistent. Da für eine effektive symptomfreie Verdauung von Laktose lediglich 50 % Laktase-Enzymaktivität nötig sind, führt dies zu einer etablierten bzw. moderaten Laktosetoleranz (Kuokkanen et al., 2003; Lomer et al., 2008; Rasinperä et al., 2005). Die Expression wird vor allem zwischen dem fünften und zehnten Lebensjahr herunterreguliert. Die mRNA-Level vom T- und C-Allel in Kindern unter fünf Jahren ist im Verhältnis 1:1. Bei Kindern über sechs Jahren sinkt der mRNA-Anteil des C-Allels auf unter 20 % (Rasinperä et al., 2005). Der hohe Anteil der mRNA des T-Allels könnte über die aktivierende Funktion in der *Enhancer*-Region im intronischen Bereich von *MCM6* erklärt werden.

(2) Die Laktase-Enzymaktivität ist in den drei Genotypen statistisch unterscheidbar (TT >> CT >> CC). Die höchste Enzymaktivität zeigt der TT-Genotyp, die geringste der CC-Genotyp. Die Laktase-Aktivität korreliert mit dem mRNA Level (Baffour-Awuah et al., 2015; Rasinperä et al., 2005).

Der SNP ist Basis für einen PCR-basierten Test, der bereits für den europäischen SNP klinische Anwendung findet. Er zählt zu den direkten Nachweismethoden. Aktuell werden verschiedene Testverfahren zur Bestimmung von LNP verwendet.

9.5.2.1 Indirekter Nachweis

Indirekte Testverfahren basieren auf den Folgen der Laktose-Verdauung für den Körper: Anstieg des Wasserstoffgehalts im Atem oder des Blutzuckerspiegels. Sie zeichnen sich durch ihren niedrigen Preis aus, sind aber zeitaufwendig und im Falle einer LNP mit unangenehmen Symptomen für den Patienten verbunden (Obermayer-Pietsch et al., 2004). Zugunsten der Vollständigkeit wurden diese Nachweismethoden hier integriert. Sie sind allerdings nicht Bestandteil des Moduls und sollen nicht ohne ärztliche Aufsicht durchgeführt werden. Das Standardverfahren ist der

H_2-Atemtest: Patienten werden 50 g Laktose verabreicht und im Anschluss wird für drei Stunden der H_2-Gehalt des Atems alle 30 min gemessen (Haberkorn et al., 2012). Der H_2-Atemtest basiert auf der Fermentation der Laktose durch Bakterien im Dickdarm. In Provokationsstudien stellte sich heraus, dass 10–15 g Laktose bereits zu Symptomen führen können, die in 41–71 % der Fälle durch Laktose-Malabsorption erklärbar sind (Högenauer et al., 2005). Die Sensitivität dieses Tests ist mit 60–80 % gering. Außerdem führt er in 20 % der Fälle zu falsch-positiven oder -negativen Ergebnissen. Zu negativen Ergebnissen kann es beispielsweise durch Wasserstoff-Nichtexkretion kommen, die in 20 % der Bevölkerung vertreten ist und durch methanproduzierende Bakterien bzw. eine vorangegangene Antibiotikabehandlung erklärt werden kann (Högenauer et al., 2005; Lomer et al., 2008). Alternativ kann auch die Veränderung des Blutzuckerspiegels nach Aufnahme von 50 g Laktose gemessen werden. Außerdem kann der Galaktose-Gehalt des Urins als indirekter Nachweis dienen (Obermayer-Pietsch et al., 2004).

9.5.2.2 Direkter Nachweis

Ein direkter Nachweis von LNP kann entweder durch kleine intestinale Biopsien oder PCR-basiert erfolgen. Durch die Entnahme von Gewebeproben aus dem Dünndarm kann die LPH-Aktivität direkt ermittelt werden. Es handelt sich hierbei um ein teures und hochinvasives Verfahren (Ségurel & Bon, 2017). Allerdings kann der LPH-Aktivitätstest keine Aussage über die Symptomatik treffen (Högenauer et al., 2005). Ein Vergleich des H_2-Atemtests mit der Enzymaktivität liefert unterschiedliche Ergebnisse; vermutlich aufgrund der Sensitivität und Spezifität, diese ist v. a. abhängig vom verwendeten Protokoll (Högenauer et al., 2005).

Bei dem PCR-basierten Verfahren handelt es sich um einen Gentest, der bereits für den europäischen SNP klinische Anwendung findet (Sibley, 2004). Für diesen zeigt er eine hundertprozentige Übereinstimmung mit den LPH-Aktivitätstest aus Biopsien (Obermayer-Pietsch et al., 2004).

9.5.3 Das Gen der Laktase-Phlorizin-Hydrolase (*LCT*)

Die Fähigkeit, Laktose auch im Erwachsenenalter zu verdauen, bezeichnet man als Laktase-Persistenz (LP). Das gelingt, indem die Expression des Enzyms Laktase-Phlorizin-Hydrolase (LPH) nicht herunterreguliert wird. Es handelt sich dabei um ein autosomal dominant vererbtes Merkmal (Heine et al., 2017). Bei dem natürlichen Verlauf der Genexpression wird LPH ab dem fünften Lebensjahr herunterreguliert (Rasinperä et al., 2005). In diesem Fall spricht man von Laktase-Nicht-Persistenz (LNP) (Heine et al., 2017). LNP betrifft etwa 70 % der Weltbevölkerung und wird als Wildtyp angesehen (Haberkorn et al., 2012). Das Merkmal wird autosomal rezessiv vererbt, da der persistente Zustand über den nicht-persistenten dominiert (Kuokkanen et al., 2003; Obermayer-Pietsch et al., 2004). Der Phänotyp tritt als dominante binäre Eigenschaft auf, da bereits 50 % der Laktaseaktivität für eine symptomfreie Verdauung von Laktose ausreichen (Lomer et al., 2008). Die DNA-Sequenz von *LCT* ist bei Laktase-persistenten und

Laktase-nicht-persistenten Menschen identisch (Norén & Sjöström, 2001). Entsprechend ist der Funktionsverlust nicht auf ein fehlerhaftes Protein zurückzuführen. Der Schlüssel zum Verständnis der unterschiedlichen Genexpression von LP und LNP liegt im regulatorischen Bereich. *LCT* wird auf transkriptionellem Level reguliert (Leseva et al., 2018). In diesem Fall spielt ein *Enhancer* im intronischen Bereich des Nachbargens *MCM6* (*Minichromosom Maintenance Complex Component 6*) eine entscheidende Rolle. Ein SNP an Stelle -13.910 bp, bei dem die die Nukleobase Cytosin durch Thymin ausgetauscht wird, liegt innerhalb eines Bindungsmotivs für den Transkriptionsfaktor (TF) Oct-1 (Olds et al., 2011). Oct-1 rekrutiert andere Transkriptionsfaktoren (TFs), vor allem HNF1α, wodurch er die Aktivierung des LCT-Promotors moduliert (Enattah et al., 2008). Im Laufe des Erwachsenwerdens wird bei Vorliegen von Cytosin die Stelle methyliert (Swallow & Troelsen, 2016). Methylierungen dieser Art finden häufig an cytosin- und guaninreichen Stellen statt (CpG-Stellen). Ist das der Fall, kann der TF Oct-1 nicht mehr binden und es findet keine Transkription des *LCT*-Gens statt. Liegt stattdessen der SNP und damit Thymin vor, kann die Stelle nicht methyliert werden und Oct-1 bindet auch noch im Erwachsenenalter und die Transkription von *LCT* kann weiter stattfinden (Labrie et al., 2016). Dies wird schematisch in ◘ Abb. 9.13 verdeutlicht. Der Einzelnukleotidpolymorphismus (SNP) an der Stelle -13.910 stromaufwärts ist somit dafür verantwortlich, dass im Erwachsenenalter LPH exprimiert werden kann oder nicht.

9

Beim Menschen zeigt die Abnahme der Genexpression große geografische und ethnische Unterschiede: Beispielsweise verlieren 80–90 % der Chinesen und Japaner die Expression bis zum vierten Lebensjahr, während es bei Europäern deutlich weniger sind (Höffeler, 2009). Analog dazu sind bisher mehrere SNPs bekannt, die ethnisch und geografisch getrennt vorliegen. Alle SNPs zeigen funktionelle Ähnlichkeiten. Für den europäischen Raum gilt der SNP -13.910 als ausschlaggebend (Enattah et al., 2002). ◘ Tab. 9.7 zeigt den prozentualen Anteil von Laktoseintoleranz in den verschiedenen Bevölkerungsgruppen.

◘ **Tab. 9.7 Prozentualer Anteil von Laktase-Nicht-Persistenz* in ausgewählten Bevölkerungsgruppen.** (Nach: Obermayer-Pietsch et al., 2004)

Bevölkerungsgruppe	**Anteil Laktoseintoleranz [%]**
Skandinavien	2
Mitteleuropa/USA („kaukasisch“)	20–40
Mexiko	53
Afrika	80
Südostasien	100

*Laktase-Nicht-Persistenz ist nicht identisch mit Laktoseintoleranz (s. u.)

9.5.4 Laktoseintoleranz – Vom Wildtyp zum Krankheitsbild

Erst im 19. Jahrhundert erkannte man Laktose als Ursache der Symptome für das Phänomen der Milchunverträglichkeit an (Höffeler, 2009). Die Fähigkeit, Milch verdauen zu können, galt lange als Normalzustand und erst in den 1960er-Jahren wurde man sich der starken Verbreitung des Laktase-Mangels bewusst (Höffeler, 2009). Heutzutage ist Milchunverträglichkeit und ihre Symptomatik gut untersucht und man unterscheidet vier phänomenologische Zustände (Heine et al., 2017). Dies wird in ◘ Tab. 9.8 veranschaulicht. Hierbei ist besonders zu betonen, dass der Begriff Laktase-Nicht-Persistenz sich lediglich auf die genetische Prädisposition bezieht, Laktase im Erwachsenenalter zu exprimieren oder nicht, wohingegen Laktoseintoleranz die symptomatische Ausprägung beschreibt. Einfach ausgedrückt bedeutet das: Laktoseintoleranz = Laktase-Nicht-Persistenz + Symptome (Blähungen, Flatulenz). Kleinkinder können i. d. R. 60–70 g Laktose verdauen, was etwa einem Liter Milch entspricht. LNP ist bei Kindern unter fünf Jahren nicht klinisch; einer Symptomatik liegen meist andere Bedingungen zugrunde, z. B. virale Gastroenteritis, Kuhmilchallergie oder Morbus Crohn (Heine et al., 2017). Für eine effektive symptomfreie Verdauung von Laktose sind lediglich 50 % LPH-Aktivität nötig. Trotzdem kann Hypolaktasie zu einer Reihe von Symptomen führen. Diese wurden unter ► Abschn. 9.5.1 kurz dargestellt. Viele Betroffene sind sich des Zusammenhangs ihrer Beschwerden mit einer Laktoseunverträglichkeit nicht bewusst (Lomer et al., 2008). Die Symptomatik und ihre Intensität sind von vielen Faktoren abhängig: Laktose-Dosis, individuelle Zusammensetzung der Darmflora, psychosomatische Faktoren (z. B. Stress), oroanale Transitzeit und physische Aktivität (Heine et al., 2017; Höffeler, 2009; Obermayer-Pietsch et al., 2004).

◘ **Tab. 9.8 Phänomenologische Unterschiede von Milchunverträglichkeit**

Entwickelter Laktase-Mangel	LPH ist von allen Disaccharidasen die letzte in der Entwicklung. Daher haben Frühchen nur etwa 30 % LPH-Aktivität. Diese können bei hoher Exposition von Laktose eine Laktoseintoleranz-Symptomatik zeigen (Heine et al., 2017).
Angeborener Laktase-Mangel	Bereits im Säuglingsalter wird LPH nicht exprimiert. Hierbei handelt es sich um eine seltene autosomal rezessive Erkrankung, die zu lebensbedrohlicher Dehydrierung und Elektrolyten-Ungleichgewicht führt (Heine et al., 2017). Diese rezessive Erkrankung steht nicht mit dem im Kapitel besprochenen SNP in Zusammenhang.
Primäre Laktose-intoleranz (Laktose-Nicht-Persistenz, LNP)	Natürlicher Verlauf der LPH-Expression mit Herunterregulierung nach der Stillzeit (► Abschn. 9.5.1 und 9.5.2).
Sekundäre Laktose-intoleranz	Keine Spaltung von Laktose im Dünndarm möglich als Folge gastrointestinaler Eingriffe oder Erkrankungen, die den Bürstensaum zerstören (Heine et al., 2017).

9.6 Didaktische Überlegungen für Ihren Unterricht

9.6.1 Lehrplanbezug und Kompetenzförderung

Da das Thema Laktose-Persistenz und damit einhergehend Laktoseintoleranz sehr facettenreich ist, kann das Modul an verschiedenen Stellen des Lehrplans implementiert werden. Eine Implementation in der Unter- bzw. Mittelstufe ist thematisch möglich, allerdings bedarf der praktische Teil einer hohen Sorgfalt und sollte nicht ohne Üben, z. B. an einem anderen Modul, in der Mittelstufe durchgeführt werden (► Tab. 4.2). In Bezug auf Mikroorganismen (MOs) wird von den Schüler*innen laut Lehrplan erwartet, dass sie den biotechnologischen Nutzen von MOs erklären, wobei ein Bezug zur Lebensmittelindustrie hergestellt werden kann. Hier bietet sich auch das Kapitel zur Herstellung von laktosefreier Milch an (► Kap. 10). Des Weiteren ermöglicht die Thematik der Laktoseintoleranz eine Vernetzung der Lernbereiche Genetik, Gentechnik und Evolution. Schüler*innen sollen in die Lage versetzt werden, die Genwirkkette sowie die Rolle der Proteine hinsichtlich der Merkmalsausbildung zu erklären. Außerdem soll ihnen der Unterschied zwischen Genotyp und Phänotyp unter Berücksichtigung der Präkonzepte sowie der Bezug zu Krankheiten bewusst werden. Der Expressionsweg von LPH kann dort exemplarisch implementiert und weitere direkte Einflussfaktoren auf den Phänotyp (u. a. Darmflora) diskutiert werden. In Anbetracht der genetischen Grundlage von LP/LNP können die zugrundeliegende Mutation und die Selektionsmechanismen als Beispiel der evolutionären Entwicklung dienen, sodass Schüler*innen Evolution als Zusammenspiel genetischer Variabilität und Selektion erklären können (◘ Tab. 9.9). Auch im Bereich der Stoff- und Energieumwandlung beim Menschen kann im Rahmen der Verdauung der Laktose-Stoffwechsel thematisiert werden. Dabei kann die Enzymausstattung als Angepasstheit und die Wirkungsweise von Enzymen auf Stoff- und Teilchenebene exemplarisch anhand der Wirkungsweise von LPH erarbeitet werden. Auch könnte der Gasaustausch und Atemgastransport durch die indirekten Nachweisverfahren für Laktoseintoleranz thematisiert werden. Dadurch würde das Konzept zusätzlich in einen lebensweltlichen Anwendungskontext gesetzt werden. Eine umfassende Implementation des Moduls empfiehlt sich in der Oberstufe. Auch hier sollten die Lernbereiche Genetik, Gentechnik und Evolution vernetzt werden. Mögliche Kompetenzerwartungen sind exemplarisch anhand des bayerischen Lehrplans in ◘ Tab. 9.9 gezeigt. Insgesamt eignet sich dieses Modul besonders, um ein tiefgreifendes Verständnis der Komplexität genetischer Vorgänge aufzuzeigen und deren Auswirkungen zu analysieren. Wie in ◘ Tab. 9.9 deutlich wird, eignet sich die Untersuchung der Laktase-Persistenz gut als Beispiel, um am Menschen viele genetische und evolutionäre Prozesse zu klären und miteinander zu vernetzen.

Tab. 9.9 Kompetenzerwartungen und Inhalte am Beispiel ausgewählter Lern- bzw. Themenbereiche der Bildungspläne im bayerischen Lehrplans (S. f. S. u. B. ISB, 2022)

Lernbereich/ Thema	Relevante Kompetenzerwartungen und Inhalte
Speicherung und Realisierung genetischer Information	Schüler*innen erläutern die Aufgaben und das Zusammenwirken von Proteinen bei der Ausbildung von Merkmalen, Genwirkkette. *Das Merkmal Laktosetoleranz wird durch die Fähigkeit des Laktoseabbaus durch das Enzym LPH moduliert. Dessen Transkription wird wiederum von verschiedenen TFs reguliert. Genwirkkette: TFs aktivieren den Promotor, LPH wird transkribiert und zur Zelloberfläche der Enterozyten transportiert.*
Regulation der Genaktivität	Schüler'innen beschreiben mögliche Mechanismen zur Regulation der Genaktivität, um zu erklären, warum trotz gleicher genetischer Ausstattung von Zellen diese unterschiedliche Eigenschaften aufweisen können und so eine flexible Anpassung an Umweltbedingungen sowie eine Entwicklung und Spezialisierung in lebenden Systemen möglich ist. *Bezug zum cis-aktiven Enhancer und die Rekrutierung notwendiger TFs durch Oct-1 zur Aktivierung des LCT-Promotors.* *Die Methylierungsmuster an CpGs im Bereich des Enhancers sind abhängig vom SNP -13.910:C>T und erlauben im Falle des T-Allels eine anhaltende Transkription der LPH im Erwachsenenalter.* **Epigenetik**: DNA-Methylierung, Inaktivierung des X-Chromosoms, ggf. weitere Beispiele
Neukombination und Veränderung genetischer Information	Schüler*innen erklären den Zusammenhang zwischen genetischer Neukombination und Evolution der bisherigen und zukünftigen Biodiversität. *Koevolution: Entwicklung der verschiedenen SNPs, die mit Laktosetoleranz korrelieren, unter Einbezug der Entwicklung der Milchwirtschaft und der damit einhergehenden Entwicklung des modernen Menschen.* Genmutationen: Austausch, Verlust oder Einschub von Nukleotiden; Ursachen von Genmutationen (Mutagene) und Auswirkungen auf die Proteinfunktion *LPH als Sonderfall, da die Mutation nicht innerhalb des Gens liegt, sondern Einfluss auf dessen regulatorische Elemente hat.*
Genetik menschlicher Erkrankungen und DNA-Analytik	Schüler*innen erläutern die Bedeutung der DNA-Analytik beim Menschen in medizinischen sowie gesellschaftlichen Kontexten. Sie analysieren und bewerten sie unter ethischen Gesichtspunkten. *Reflektion des PCR-basierten Gentests zur Analyse einer bestehenden Laktoseintoleranz. Vorteile: Günstig, schnell, ohne symptomatische Nebenwirkungen für den Patienten. Nachteil: Keine Aussage über die Symptomatik, nicht universell (weltweit) gültig.* Genetisch bedingte Krankheiten; ethische Gesichtspunkte: z. B. Feststellung der Identität, Massengentests, Gentests als Teil von Gesundheitsprüfungen
Evolutionsforschung	Homologie molekularer Merkmale: Basensequenzvergleich, Aminosäuresequenzvergleich *LPH als Sonderfall, da Basensequenz des Gens bei LP und LNP keine Unterschiede zeigt. Weitergehende Analysen möglich: Vergleich der Sequenz für die PCR im regulatorischen Element bis hin zur Computersimulation zur Analyse der SNP-Entstehung und Verbreitung.*

(Fortsetzung)

Tab. 9.9 (Fortsetzung)

Lernbereich/ Thema	**Relevante Kompetenzerwartungen und Inhalte**
Mechanismen der Evolution	Erweiterte Evolutionstheorie als Zusammenspiel der Evolutionsfaktoren: Allelfrequenzänderung in einer Population durch Mutation und Rekombination, natürliche Selektion und Selektionsformen (stabilisierend, transformierend, disruptiv, Gendrift; Fitness). Artbildung als Folge von geographischer und ökologischer Isolation, reproduktive Isolation und biologischer Artbegriff, Problematik des Artbegriffs. Koevolution: mutualistisch, antagonistisch *Bezug sowohl über die Koevolution der Milchwirtschaft und gebildeter SNPs als auch über die Koevolution der verschiedenen SNPs, welche ethnisch und geografisch getrennt sind und auf verschiedene Domestizierungsereignisse hindeuten. Eine Vertiefung des Themengebiets ist durch die Analyse junger Selektionsereignisse möglich.*

9.6.2 Schülerorientierung

Ausgehend von den alltäglichen Beobachtungen sowie Schülervorstellungen und -interessen an unterschiedlichen Ernährungsformen eignet sich der Kontext Laktoseunverträglichkeit als multifaktorielles Krankheitsbild besonders gut, um an der Lebenswelt der Schüler*innen anzuknüpfen. Aufgrund der Komplexität des Kontextes sollten die Schüler*innen mit den Grundbegriffen der Genetik und ggf. der Evolution bereits vertraut sein, um die unterschiedlichen Genotypen zum Merkmal Laktase-Persistenz interpretieren zu können und um auf Basis des fachlichen Verständnisses auf die genetischen und medizinischen Zusammenhänge schließen zu können. Der Kontext Laktoseintoleranz bietet damit die Möglichkeit, die genetischen Grundbegriffe erneut zu wiederholen und zu vertiefen. Um vom schematischen Formalismus der Vererbung Abstand zu gewinnen und stattdessen die Beteiligung der Gene an der Merkmalsausprägung aufzuzeigen (Kattmann, 2005a), kann am Beispiel der Laktoseintoleranz gut demonstriert werden. Dazu kann der gesamte Mechanismus der *Enhancer*-Funktion und/oder der Herunterregulierung durch epigenetische Mechanismen im Unterricht bearbeitet werden (Kattmann, 2005b). Das Verständnis der Gene als biochemische Makromoleküle ist wichtig, um ihr komplexes Zusammenspiel v. a. bei multifaktoriellen Erkrankungen zu erfassen (Schwanewedel et al., 2008). In dem Kontext kann auch die klare Trennung von Genotyp und Phänotyp erneut demonstriert werden, indem die Interaktion mit Umwelteinflüssen, v. a. durch die individuelle Darmflora, berücksichtigt und ihr Einfluss auf den Phänotyp diskutiert wird (Schwanewedel et al., 2008). Besonders hervorzuheben ist, dass die genetische Veränderung im regulatorischen Bereich stattfindet (► Abschn. 9.5) und entsprechend keinen Einfluss auf die Proteinstruktur hat. Hier kann besonders gut die biochemische

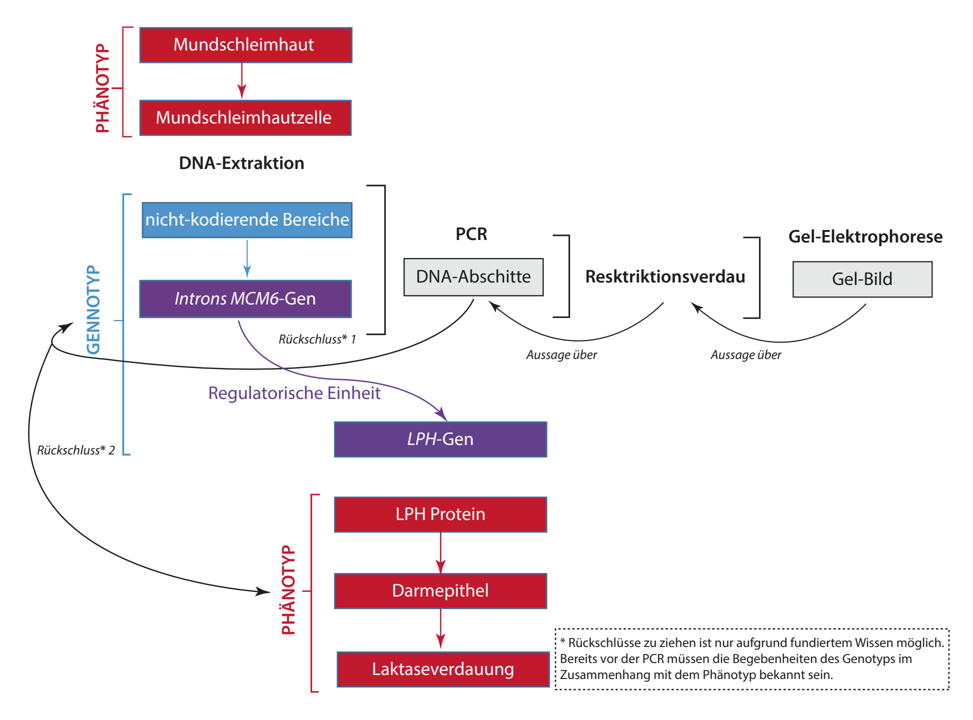


Abb. 9.14 Darstellung der Zusammenhänge zwischen genetischen und phänotypischen Grundlagen sowie deren Verknüpfung mit molekularbiologischen Methoden. Am Beispiel *Food Wars Episode I* wird der Ebenenwechsel (Genotyp – Analyse – Phänotyp) grafisch verdeutlicht

Wirkung von Genen gezeigt werden. Abb. 9.14 verdeutlicht diese komplexen Zusammenhänge von Genotyp und Phänotyp und deren Verknüpfung über die vier verschiedenen Analyseschritte DNA-Extraktion, PCR, Restriktionsverdau und Agarose-Gelelektrophorese. Für Fortgeschrittene kann an dieser Stelle auch die Gegenüberstellung zu anderen Modulen eingebettet werden und die Vernetzung von Fachwissen verdeutlicht werden (▶ Tab. 4.2). Unter Berücksichtigung der biologischen Basiskonzepte (KMK, 2005, 2020) kann an diesem Beispiel der Wechsel zwischen biologischen Systemebenen für das Verständnis komplexer biologischer Prozesse gefördert werden (Hammann et al., 2006) (vgl. Kattmann, 2005b). Die beiden Basiskonzepte *System- und Struktur-Eigenschaftsbeziehungen* stehen hier im engen Zusammenhang. Bezogen auf Laktoseintoleranz sind drei unterschiedliche Systemebenen mit ihren Struktur-Eigenschafts-Beziehungen und der Wechsel zwischen ihnen bedeutsam:

1. Zellebene: In den Enterozytenzellen findet die Genexpression von LPH statt, d. h. auf der Ebene kommen die Regulationsmechanismen des Gens sowie die Proteinbiosynthese mit dem Transport des fertigen LPH-Enzyms zur Zelloberfläche zum Tragen. Hier findet schon die erste Ebenentransferleistung statt, denn aus demselben einen Gen werden viele LPH-Enzyme produziert und an die Zelloberfläche transportiert.

2. Organebene: Im Dünndarm findet die eigentliche enzymatische Tätigkeit statt. Die Dünndarmwand besteht aus der Summe aller Enterozytenzelloberflächen, von denen einige LPH exprimieren. Neben LPH existieren noch viele weitere Verdauungsenzyme. LPH als Oberflächenprotein spaltet Laktose, sodass die Produkte Galaktose und Glukose aufgenommen werden können. Neben den Verdauungsenzymen sind im Darm auch Mikroorganismen beheimatet, die ein eigenes Ökosystem bilden. Der Dünndarm ist wiederum Teil des gesamten Darms und unterscheidet sich in seinen systemischen Bedingungen, z. B. Mikroorganismenzusammensetzung und pH-Wert, von anderen Darmabschnitten. Die Transferleistung zwischen den Ebenen hier ist folglich die Zusammensetzung mehrerer Zellen zu einem Organabschnitt.
3. Ebene des Organismus: Der Organismus Mensch, der abhängig vom Zusammenspiel seines Genotyps und der Umwelt, in diesem Fall der Zusammensetzung seiner Darmflora, eine graduelle Symptomatik der Laktoseintoleranz zeigen kann oder durch seine Vorlieben gesteuert wird. Beispielsweise wissen viele Menschen nicht, dass sie Laktase-nicht-persistent sind, weil sie aufgrund ihrer Abneigung zu Milchprodukten keine Symptome zeigen.

Auf allen drei Ebenen können die Struktur-Funktions-Zusammenhänge in Abhängigkeit von der Jahrgangsstufe bearbeitet werden. Während die Genexpression typischerweise als Oberstufenthema behandelt wird, eignen sich die phänotypischen Einsichten im Themenbereich der Humanbiologie sowie der Ebenenwechsel zum Genotyp im Sinne der klassischen Genetik bereits für die Mittelstufe. Des Weiteren empfehlen (Baalmann et al. 2005; Kattmann 2005a) eine Betrachtung der Genetik im Kontext anderer Themen, u. a. Evolution, um Präkonzepte zu überwinden. Hiermit wird das Basiskonzept *Entwicklung* betrachtet. Auch das gelingt mit dem Beispiel der Laktoseintoleranz unter Betrachtung ihrer evolutionären Entwicklung. In dem Zusammenhang kann auch die Betrachtung genetischer Normen reflektiert werden, denn bei diesen werden gesellschaftliche Normen und die fachlichen Konzepte der Genetik vermischt. Laktoseintoleranz ist der Wildtyp und sollte daher nicht als Krankheit gesehen werden, allerdings gilt Laktosetoleranz gesellschaftlich als Norm, da beispielsweise der Großteil der Deutschen laktosetolerant ist. Global gesehen ist Laktosetoleranz nicht weiter verbreitet als -intoleranz und basiert eben auf einer evolutionär jungen Mutation. In dem Kontext kann auch ein weiterer Einblick in wissenschaftliches Denken gegeben werden (Mayer, 2007) (▶ Kap. 4), indem die beiden Hypothesen *Cultural-Historical* und *Reverse-Cause* (s. Exkurs S. 198) zur Entstehung der Laktoseintoleranz diskutiert werden. Das Augenmerk wird darauf gerichtet, wie diese Annahmen entstanden sind, auf welcher (Daten-)Basis die *Reverse-Cause-Hypothese* verworfen wurde und welche Implikationen diese Falsifikation für die Selektion bedeutet. Der evolutionäre Aspekt dieser Thematik kann zum

multiperspektivischen Denken (Feltovich et al., 1992) genutzt werden. Daran anknüpfend kann auch die vielfältige Ausprägung von Laktoseintoleranz das strikte Denken in Typen, zu dem Schüler*innen häufig neigen (Abschn. ► 4.2.1), auflockern, denn zwischen laktosetolerant und -intolerant liegt ein ganzes Spektrum unterschiedlich ausgeprägter Symptome.

Aus der didaktischen Perspektive sollten deskriptive und normative Bewertungen mit Blick auf den Erwerb von Bewertungskompetenz (KMK, 2005, 2020) im Biologieunterricht bewusst unterschieden werden. Während die Feststellung Laktose-Persistenz vs. Laktose-Nicht-Persistenz den Genotyp wissenschaftlich beschreibt und die beiden vorkommenden Allele einander gegenüberstellt, unterliegt die Merkmalsausprägung auf der phänotypischen Ebene Laktosetoleranz vs. Laktoseintoleranz mit der damit einhergehenden Symptomatik darüber hinaus einer normativen Bewertung von gesund (= gut) vs. krank (= schlecht). Insgesamt kann die Thematik Laktoseintoleranz damit auf der Basis von wissenschaftlichen Befunden verdeutlichen, dass genetische Variation weder gut noch schlecht im deskriptiven Sinne ist und damit die Bewertungskompetenz der Schüler*innen fördern (Schwanewedel et al., 2008).

Mikroorganismen spielen im Zusammenhang mit Laktoseintoleranz eine große Rolle. Einerseits prägen sie das symptomatische Spektrum von Laktoseintoleranz, da dieses zu einem großen Teil von der individuellen Zusammensetzung der Darmflora abhängig ist (Heine et al., 2017). Andererseits dienen sie als Quelle industriell verwendeter β-Galaktosidase zur hydrolytischen Spaltung von Laktose in Milchprodukten (Harju et al., 2012). Entsprechend können mehrere Schülerperspektiven auf Mikroorganismen adressiert werden. Die zufälligen Auswirkungen des bakteriellen Stoffwechsels auf die Verdauung können sowohl aus Sicht der Mikroorganismen als auch aus Sicht des Menschen reflektiert werden. In dem Kontext bietet sich auch die Definition von Pro- und Präbiotika an, die Mikroorganismen enthalten, die für den menschlichen Organismus hilfreich sind, aber diese Hilfsbereitschaft nicht mit Absicht verfolgen. Diese beiden Beispiele verdeutlichen, dass die Aktivität von Mikroorganismen weder auf Schaden noch Nutzen des Wirts abzielt.

Der zugrundeliegende SNP –13.910:C>T, welcher Grundlage zur Analyse der genetischen Prädisposition von Laktase-Persistenz ist, stellt eine zufällige Mutation dar, die im Laufe der Evolution selektiert worden ist (Enattah et al., 2008). Besonders interessant ist das junge Alter der Mutation und das gleichzeitige Auftreten mehrerer SNPs mit gleicher Auswirkung. In dem Zuge kann verdeutlicht werden, dass Evolution kein gerichteter Prozess der Veränderung ist, der in allen Individuen einer Population in gleicher Weise vor sich geht (Baalmann et al., 2004), und die Rolle der Gene als biochemischer Stoff innerhalb eines Systems kann reflektiert werden.

Was war zuerst da? Milchwirtschaft oder Genmutation

Vor etwa 10.000 Jahren verbreitete sich der moderne Mensch auch außerhalb Afrikas und begann Tiere und Pflanzen zu domestizieren. Die Altersbestimmung der SNPs, welche mit LP assoziiert werden, zeigt eine Übereinstimmung mit dem Beginn der Vieh- und Milchwirtschaft in der menschlichen Geschichte. In diesem Zusammenhang wurden zwei Hypothesen entwickelt, die der klassischen Henne-Ei-Problematik folgen (Höffeler, 2009; Lomer et al., 2008):

1. *Cultural-Historical*: Der LP-Phänotyp war vor der Entstehung der Milchwirtschaft selten und hat sich im Anschluss schnell ausgebreitet.
2. *Reverse-Cause*: Der LP-Phänotyp war in einigen Populationen bereits weit verbreitet und sorgte dort für die Entwicklung der Milchwirtschaft.

In Analysen fossiler DNA konnte der SNP -13.910:C>T bis zum Mittelalter nicht nachgewiesen werden, weshalb die kulturhistorische Hypothese anzunehmen ist und es sich um eine Koevolution handelt (Höffeler, 2009; Lomer et al., 2008). Ein weiterer Hinweis für die Koevolution ist, dass in Regionen Europas mit hohen LP-Anteilen auch eine Selektion von Vieh-Milchprotein-Genen stattfand (Bersaglieri et al., 2004; Hollox, 2005).

Nach der Darwin'schen Selektionstheorie muss das Konsumieren von Milch einen Selektionsvorteil haben (Höffeler, 2009). Dieser wird vor allem auf den zusätzlichen ernährungstechnischen Vorteil zurückgeführt (Bersaglieri et al., 2004). Schätzungen zufolge erzeugen laktosetolerante Menschen 20 % mehr fruchtbare Nachkommen, was für einen erheblichen Selektionsdruck spricht (Jeremy M. Berg et al., 2018, p. 551).

Allerdings sind 10.000 Jahre aus evolutionärer Sicht eine sehr kurze Zeit, da die Selektion nur etwa 400 Generationen betreffen konnte (Hollox, 2005). Die Hypothese einer kürzlich aufgetretenen Selektion ist schwer nachzuweisen, da sich reguläre Codon-basierte Methoden auf Allel-Häufigkeiten stützen, welche allerdings neben selektiver Prozesse auch durch demographische Prozesse (z. B. Änderung der Populationsgröße oder Genetische Drift) beeinflusst werden (Hollox, 2005). Es sprechen vor allem drei Dinge für eine junge stark positive Selektion:

Erstens ist der Überfluss seltener Varianten ein Hinweis für einen Selektionsschwung, gefolgt von einer Akkumulation neuer seltener Mutationen, welche wiederum unterschiedliche Haplotyp-Hintergründe zeigen (Bersaglieri et al., 2004; Enattah et al., 2008).

Zweitens herrschen große Unterschiede in der Allel-Häufigkeit zwischen Populationen, was auf unterschiedliche selektive Effekte hindeutet, die zu einem dramatischen Anstieg dieser Allele in einigen, aber nicht allen Populationen führte.

Drittens bleiben die geläufigen Haplotypen für LP über die Länge von einer Megabase fast identisch, was ungewöhnlich lang in Anbetracht ihrer Häufigkeiten ist (Bersaglieri et al., 2004; Enattah et al., 2008; Hollox, 2005; Ranciaro et al., 2014). Allerdings kann die außergewöhnliche Länge der Haplotypen ein möglicher Grund dafür sein, dass ein bisher noch unbekannter Polymorphismus LP zugrunde liegt und die ermittelten SNPs mit diesem korrelieren (Bersaglieri et al., 2004; Enattah et al., 2008; Hollox, 2005; Tishkoff et al., 2007).

Die heutige LP-Verteilung lässt sich vor allem durch konvergente Evolutionsprozesse und einen starken positiven Selektionsdruck erklären (Coelho et al., 2005; Ségurel & Bon, 2017; Tishkoff et al., 2007).

9.6.3 Umsetzung *Food Wars Episode I*: Fach- und Methodenwissen vernetzen

Die TIMSS-[1] und PISA-[2]Studien (Baumert et al., 1998; Baumert et al., 2001; Prenzel et al., 2007) haben in den letzten beiden Jahrzehnten gezeigt, dass Schüler*innen Schwierigkeiten haben, naturwissenschaftliche Fakten, Zusammenhänge und Konzepte systematisch aufeinander zu beziehen und in neuen Kontexten anzuwenden. Die Psychologie spricht in diesem Zusammenhang von *trägem Wissen* (Renkl, 1996), d. h. Inhalte und Themen aus vorangegangenem Unterricht oder sonstigen Lerngelegenheiten bestehen als isolierte Wissensbestände oder unzusammenhängende Regeln und können nicht in anderen Anwendungsfeldern aktiviert oder für komplexe Probleme des Berufs- oder Alltagslebens genutzt werden.

Um dieser Problemlage zu begegnen, wurden einerseits Programme zur Unterrichtsentwicklung aufgelegt, die gemeinsam mit Schulpraxis und Bildungsforschung aktiv zur Weiterentwicklung des mathematisch-naturwissenschaftlichen Unterrichts beitragen und der additiven Häufung von unverbundenem Faktenwissen bei Schüler*innen entgegenwirken sollten (z. B. SINUS (Ostermeier et al., 2004; Ostermeier et al., 2010) oder die Kontext-Programme ChiK (Parchmann et al., 2006), PiKo (Mikelskis-Seifert & Duit, 2007) und BiK (Bayrhuber et al., 2007)). Andererseits reagierte die Bildungspolitik Anfang der 2000er-Jahre mit der Einführung bundesweiter Bildungsstandards, zunächst für den mittleren Schulabschluss (K. KMK, 2005) formuliert, aktuell auch für das Abitur (K. KMK, 2020), die länderübergreifend bei der Weiterentwicklung von Kerncurricula und Bildungsplänen als Leitlinien dienen. Mit diesen Bildungsstandards für die naturwissenschaftlichen Unterrichtsfächer wurden im Kompetenzbereich Fachwissen *Basiskonzepte* etabliert, um biologische Inhalte und Themenbereiche systematisch aufeinander zu beziehen (Neuhaus & Spangler, 2018). Auf diese Weise sollen Letztere über Jahrgangsstufen (*vertikale Vernetzung*) bzw. Fächergrenzen hinweg (*horizontale Vernetzung*) miteinander vernetzt werden, um so zwischen bereits im Unterricht behandelten, aktuellen oder auch künftigen Lerninhalten eine stärkere Kohärenz zu schaffen (BLK, 1998).

Unter Vernetzung versteht man eine „*explicit verbal reference by the teacher to ideas or events from another lesson or part of the lesson*" (Stigler et al., 1999; Wadouh et al., 2009). In ► Abschn. 9.6 wurden daher für Sie als Lehrkraft die Bezüge der fachwissenschaftlichen Inhalte vorangegangener Kapitel sowie Zusammenhänge zwischen ausgewählten Präkonzepten der Schüler*innen sowie den hier im Mittelpunkt stehenden thematischen Schwerpunkten und Begriffen herausgearbeitet (S. 199), um Ihnen mögliche Vernetzungen aufzuzeigen und Ihren Schüler*innen das kumulative Lernen von Fach- und Methodenwissen zu erleichtern. Insbesondere das Vorwissen der Schüler*innen spielt für die weitere Wissensent-

1 Third International Mathematics and ScienceStudy.
2 Program for International Student Assessment.

wicklung eine zentrale Rolle, weil aus der Perspektive konstruktivistischer Lehr-Lern-Theorien neue Informationen stets in vorhandene Wissensbestände integriert werden (Gerstenmaier & Mandl, 1995). Wird durch den Lernprozess ein qualitativ angemesseneres, vertieftes Verständnis eines schon vorher in Grundzügen bekannten Sachverhalts erreicht, spricht man von kumulativen Lernen (Harms & Bünder, 1999).

Warum fällt das kumulative Lernen in der Biologie so schwer? Es gibt Hinweise darauf, dass die Biologie viele Themenfelder hat, die relativ unabhängig voneinander gelernt werden können (z. B. Ökologie, Genetik, Stoffwechselphysiologie). Sie ist damit eine vergleichsweise unstrukturierte Wissensdomäne (*ill-structured domain*), die einerseits sehr komplex und der andererseits im Gegensatz zu den Naturwissenschaften Physik oder Chemie eine gewisse Regelhaftigkeit über wiederkehrende Muster und Gesetzmäßigkeiten auf den ersten Blick fehlt (z. B. Feltovich et al., 1992). Eine konsequente Rückführung auf Basiskonzepte (z. B. Struktur und Funktion) und weitere übergeordnete Prinzipien (z. B. Schlüssel-Schloss-Prinzip bei enzymatischen Reaktionen) sollen Schüler*innen daher das kumulative Lernen erleichtern. Des Weiteren werden die Vorstellungen von Schüler*innen gerade in der Biologie an alltäglichen Beispielen erworben und stellen häufig Lernhürden dar (Kattmann, 2007a, pp. 2–6, 2007b). Daher finden Sie in jedem Kapitel zur praktischen Umsetzung der molekularbiologischen Methoden auch Hinweise auf gut untersuchte Schülervorstellungen in dem jeweiligen Themenbereich, damit Sie diese aktiv in Ihrem Unterricht aufgreifen und zu den entsprechenden fachlichen Konzepten weiterentwickeln können (z. B. nach der *Conceptual Change-Theorie* (Krüger, 2007); weitere Unterrichtsbeispiele zur Genetik findet man in Kattmann, 2007a, 2017).

Mit diesem Modul können Sie explizite Referenzen zu den fachlichen Inhalten der ersten drei Module (► Kap. 6, 7 und 8) herstellen und damit die grundlegenden Begriffe, Zusammenhänge und Konzepte der Genetik in Ihrem Unterricht vernetzen. In den Kontexten Kriminalfall, circadianer Rhythmus und bittere Geschmackswahrnehmung wurden bereits genetische Fragestellungen, wie das Vorkommen von Genmutationen, thematisiert und wiederkehrend den drei zentralen Arbeitsweisen der Molekularbiologie – PCR, Agarose-Gelelektrophorese und Restriktionsverdau – untersucht. Durch das wiederholte Aufgreifen der drei genannten Arbeitsmethoden hier in einem weiteren Kontext (Laktoseintoleranz) wird zusätzlich das Methodenwissen vertieft, bei gesteigerter Komplexität des fachlichen Inhalts. Damit ist das Modul *Food Wars Episode I* geeignet, durch kumulatives Lernen fachliche und methodische Kompetenzen zu fördern.

Die *Conceptual Change*-Theorie

Schüler*innen verfügen über Vorstellungen, Alltagserfahrungen und Vorwissen, die sie mit in den Biologieunterricht bringen. Auf dieser Basis entstehen Rahmentheorien, die sich über Jahre entwickeln und sich im Alltag als kohärentes Erklärungssystem bewährt haben (Vosniadou, 1994). Die Rahmentheorien stimmen häufig nicht mit wissenschaftlichen Vorstellungen überein, sodass neue wissenschaftliche Konzepte, die im Unterricht vermittelt werden, im Widerspruch zu den bestehenden Schülervorstellungen stehen (Vosniadou & Brewer, 1992). Ein Konzeptwechsel erfolgt daher nicht automatisch, sondern muss nach konstruktivistischer Auffassung des Lernens weiterentwickelt werden (Vosniadou, 1999). Bildungswissenschaftliche Erklärungsansätze, die Lernprozesse auf der Basis eigener Vorstellungen beleuchten, werden unter *Conceptual Change* zusammengefasst (Krüger, 2007). Um Schülervorstellungen in Richtung des wissenschaftlichen Konzepts entwickeln zu können, müssen folgende Bedingungen erfüllt sein (Krüger, 2007):

- Schüler*innen müssen mit ihren bestehenden Vorstellungen unzufrieden sein, weil diese z. B. eine Beobachtung oder einen neuen Sachverhalt nicht mehr erklären können.
- Das neue wissenschaftliche Konzept muss verständlich sein, sodass es leicht in bestehendes Wissen integriert werden kann und auch zu anderen Bereichen passt.
- Die neue Vorstellung muss plausibel sein, d. h. sie sollte auf Probleme anwendbar sein, die durch die alte Vorstellung nicht gelöst werden konnten, sowie glaubwürdig und widerspruchsfrei zur alten Vorstellung sein.
- Die wissenschaftliche Vorstellung sollte auf andere Bereiche, auf neue Untersuchungsbereiche anwendbar und ausbaufähig sein. Erleben Schüler*innen die neue wissenschaftliche Vorstellung als fruchtbar, werden sie dieses Konzept häufiger zur Erklärung anwenden.

9.7 Online-Material

Zur weiteren Vertiefung steht Ihnen zusätzliches Material online zur Verfügung (sn.pub/rEt5bJ). Unter anderem finden Sie dort die Flussdiagramme in detaillierter Ausführung. Diese eignen sich als Arbeitsanweisungen für Schüler*innen für die praktische Umsetzung und können direkt ausgedruckt werden. Entsprechend stehen Ihnen auch die Bild- und Videodateien zur Nutzung im Unterricht zur Verfügung. Des Weiteren finden Sie dort verschiedene Aufgabenformate zu versuchsspezifischen Fragen. Online haben Sie die Möglichkeit, sich aus diesen individuelle Arbeitsblätter zusammenzustellen. Die Musterlösungen werden Ihnen dort ebenfalls angegeben.

► Auszug eines Arbeitsblatts für *Food Wars Episode I.*

Laura trinkt in der Früh ein Glas Milch und isst einen Jogurt. 30 Minuten später bekommt sie Blähungen und Bauchkrämpfe. Am Abend isst Laura Raclette mit extra viel Käse und bekommt keine Bauchschmerzen. Benennen Sie ein mögliches Krankheitsbild, auf das die genannten Symptome beim Verzehr von Milch und Joghurt zurückzuführen sind. Analysieren Sie die Unterschiede in der Symptomatik bei den genannten Milchprodukten. ◄

Das hier vorgestellte Versuchskonzept kann ohne weitere Sicherheitsregularien an Schulen durchgeführt werden. Trotzdem können Sie online die entsprechenden Sicherheitsdatenblätter abrufen (sn.pub/rEt5bJ).

Zusammenfassung

Laktoseintoleranz wird in der modernen Gesellschaft als multifaktorielles Krankheitsbild wahrgenommen, obwohl sie dem humanen Wildtyp entspricht. In dem Versuch *Food Wars Episode I* führen Sie einen PCR-basierten Gentest durch, welcher in ähnlicher Weise in europäischen Kliniken Anwendung findet. Die genetischen Grundlagen zum Phänomen Laktoseintoleranz sind fortgeschritten, ermöglichen aber die Reflexion zahlreicher Schüler*innen-Präkonzepte. Dieses Kapitel führt ausführlich in die genetischen Grundlagen zur Laktoseintoleranz ein und befähigt Sie, in eine Diskussion mit den Schüler*innen einzusteigen. Das Modul ist für eine Umsetzung im Klassenzimmer geeignet und enthält wichtige Hinweise, wie Sie typische Fehler adressieren können. Es wird durch weitere Versuche in Kapitel *Food Wars Episode II* ergänzt.

Literatur

Baalmann, W., Frerichs, V., Weitzel, H., Gropengießer, H., & Kattmann, U. (2004). Schülervorstellungen zu Prozessen der Anpassung – Ergebnisse einer Interviewstudie im Rahmen der Didaktischen Rekonstruktion. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 10*(1), 7–28.

Baalmann, W., Frerichs, V., & Kattmann, U. (2005). Genetik im Kontext von Evolution. Oder: Warum die Gorillas schwarz wurden. *Der mathematische und naturwissenschaftliche Unterricht, 58*(7), 420–427.

Baffour-Awuah, N. Y., Fleet, S., Baker, S. S., Butler, J. L., Campbell, C., Tischfield, S., … Fishman, L. (2015). Functional significance of single nucleotide polymorphisms in the lactase gene in diverse United States subjects and evidence for a novel lactase persistence allele at -13909 in those of European ancestry. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 60*(2), 182.

Baumert, J., Bos, W., & Watermann, R. (1998). *TIMSS/III: Schülerleistungen in Mathematik und den Naturwissenschaften am Ende der Sekundarstufe II im internationalen Vergleich. Zusammenfassung deskriptiver Ergebnisse*. MPI für Bildungsforschung.

Baumert, J., Klieme, E., Neubrand, M., Prenzel, M., Schiefele, U., Schneider, W., … Weiss, M. (Hrsg.). (2001). *PISA 2000. Basiskompetenzen von Schülerinnen und Schülern im internationalen Vergleich*. Leske u. Budrich.

Bayrhuber, H., Bögeholz, S., Eggert, S., Elster, D., Grube, C., Hößle, C., … Schoormans, G. (2007). Biologie im Kontext – Erste Forschungsergebnisse. *Der mathematische und naturwissenschaftliche Unterricht, 60*(5), 304–313.

Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J. Jr, & Stryer, L. (2018). *Stryer Biochemie* (8. Aufl. 2018 ed.). Springer Spektrum.

Bersaglieri, T., Sabeti, P. C., Patterson, N., Vanderploeg, T., Schaffner, S. F., Drake, J. A., … Hirschhorn, J. N. (2004). Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene. *The American Journal of Human Genetics, 74*(6), 1111–1120.

BLK, B.-L.-K. f. B. u. F. (1998). *Gutachten zur Vorbereitung des Programms „Steigerung der Effizienz des mathematisch-naturwissenschaftlichen Unterrichts“*. BLK.

Coelho, M., Luiselli, D., Bertorelle, G., Lopes, A. I., Seixas, S., Destro-Bisol, G., & Rocha, J. (2005). Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence. *Human genetics, 117*(4), 329–339.

Enattah, N. S., Sahi, T., Savilahti, E., Terwilliger, J. D., Peltonen, L., & Järvelä, I. (2002). Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nature genetics, 30*(2), 233–237.

Enattah, N. S., Jensen, T. G. K., Nielsen, M., Lewinski, R., Kuokkanen, M., Rasinpera, H., … Khalil, I. F. (2008). Independent introduction of two lactase-persistence alleles into human populations reflects different history of adaptation to milk culture. *The American Journal of Human Genetics, 82*(1), 57–72.

Feltovich, P. J., Coulson, R. L., Spiro, R. J., & Dawson-Saunders, B. K. (1992). Knowledge application and transfer for complex tasks in ill-structured domains: Implications for instruction and testing in biomedicine. In D. A. Evans & V. L. Patel (Hrsg.), *Advanced models of cognition for medical training and practice* (S. 213–244). Springer.

Gerstenmaier, J., & Mandl, H. (1995). Wissenserwerb unter konstruktivistischer Perspektive. *Zeitschrift für Pädagogik, 41*(6), 867–888.

Haberkorn, B. C. M., Am Ermens, A., Koeken, A., Cobbaert, C. M., & van Guldener, C. (2012). Improving diagnosis of adult-type hypolactasia in patients with abdominal complaints. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 50*(1), 119–123.

Hammann, M., Thi, T. H. P., & Ehmer, M. (2006). Fehlerfrei Experimentieren. *Der mathematische und naturwissenschaftliche Unterricht, 59*(5), 292–299.

Harju, M., Kallioinen, H., & Tossavainen, O. (2012). Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects. *International Dairy Journal, 22*(2), 104–109.

Harms, U., & Bünder, W. (1999). Zuwachs von Kompetenz erfahrbar machen: Kumulatives Lernen: Erläuterungen zum Modul 5. https://www.schulportal-thueringen.de/get-data/26634e9f-e013-4747-bb69-04cb3c03d937/modul5.pdf.

Heine, R. G., AlRefaee, F., Bachina, P., Leon, J. C., Geng, L., Gong, S., … Rogacion, J. M. (2017). Lactose intolerance and gastrointestinal cow's milk allergy in infants and children–common misconceptions revisited. *World Allergy Organization Journal, 10*(1), 1–8.

Höffeler, F. (2009). Geschichte und Evolution der Lactose(in)toleranz. Das Erbe der frühen Viehzüchter. *Biologie in unserer Zeit, 39*(6), 378–387.

Högenauer, C., Hammer, H. F., Mellitzer, K., Renner, W., Krejs, G. J., & Toplak, H. (2005). Evaluation of a new DNA test compared with the lactose hydrogen breath test for the diagnosis of lactase non-persistence. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology, 17*(3), 371–376.

Hollox, E. (2005). Evolutionary genetics: Genetics of lactase persistence – Fresh lessons in the history of milk drinking. *European Journal of Human Genetics: EJHG, 13*(3), 267–269.

ISB, S. f. S. u. B. (2022). LehrplanPlus Bayern. www.lehrplanplus.bayern.de

Jensen, T. G. K., Liebert, A., Lewinsky, R., Swallow, D. M., Olsen, J., & Troelsen, J. T. (2011). The −14010* C variant associated with lactase persistence is located between an Oct-1 and HNF1α binding site and increases lactase promoter activity. *Human genetics, 130*(4), 483–493.

Kattmann, U. (2005a). Charakterlose Gene. Konzepte und Denkfiguren zur Vererbung. *Bioskop*, 23–25.

Kattmann, U. (2005b). Lernen mit anthropomorphen Vorstellungen? – Ergebnisse von Untersuchungen zur Didaktischen Rekonstruktion in der Biologie. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 11*, 165–174.

Kattmann, U. (2007a). Biologie-Lernen mit Alltagsvorstellungen. *Unterricht Biologie Kompakt*, (329).

Kattmann, U. (2007b). Didaktische Rekonstruktion — eine praktische Theorie. In D. Krüger & H. Vogt (Hrsg.), *Theorien in der biologiedidaktischen Forschung* (S. 93–104). Springer.

Kattmann, U. (Hrsg.). (2017). *Biologie unterrichten mit Alltagsvorstellungen: Didaktische Rekonstruktion in Unterrichtseinheiten* (1). Aufl.). Klett Kallmeyer.
KMK, K. (2005). *Bildungsstandards im Fach Biologie für den Mittleren Schulabschluss*. Wolters Kluwer.
KMK, K. (Hrsg.). (2020). *Bildungsstandards im Fach Biologie für die Allgemeine Hochschulreife: (Beschluss der Kultusministerkonferenz vom 18.06.2020)*. Wolters Kluwer Deutschland GmbH.
Krüger, D. (2007). Die Conceptual Change-Theorie. In *Theorien in der biologiedidaktischen Forschung* (S. 81–92). Springer.
Kuokkanen, M., Enattah, N. S., Oksanen, A., Savilahti, E., Orpana, A., & Järvelä, I. (2003). Transcriptional regulation of the lactase-phlorizin hydrolase gene by polymorphisms associated with adult-type hypolactasia. *Gut, 52*(5), 647–652.
Labrie, V., Buske, O. J., Oh, E., Jeremian, R., Ptak, C., Gasiūnas, G., … Adamonis, K. (2016). Lactase nonpersistence is directed by DNA-variation-dependent epigenetic aging. *Nature Structural & Molecular Biology, 23*(6), 566–573.
Lench, N. (1988). Simple non-invasive method to obtain DNA for gene analysis. *The Lancet, 331*(8599), 1356–1358. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(88)92178-2
Leseva, M. N., Grand, R. J., Klett, H., Boerries, M., Busch, H., Binder, A. M., & Michels, K. B. (2018). Differences in DNA methylation and functional expression in lactase persistent and non-persistent individuals. *Scientific reports, 8*(1), 1–14.
Lewinsky, R. H., Jensen, T. G. K., Møller, J., Stensballe, A., Olsen, J., & Troelsen, J. T. (2005). T−13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro. *Human Molecular Genetics, 14*(24), 3945–3953.
Liebert, A., Jones, B. L., Danielsen, E. T., Olsen, A. K., Swallow, D. M., & Troelsen, J. T. (2016). In vitro functional analyses of infrequent nucleotide variants in the lactase enhancer reveal different molecular routes to increased lactase promoter activity and lactase persistence. *Annals of Human Genetics, 80*(6), 307–318.
Lomer, M. C. E., Parkes, G. C., & Sanderson, J. D. (2008). lactose intolerance in clinical practice–myths and realities. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 27*(2), 93–103.
Mantei, N., Villa, M., Enzler, T., Wacker, H., Boll, W., James, P., … Semenza, G. (1988). Complete primary structure of human and rabbit lactase-phlorizin hydrolase: Implications for biosynthesis, membrane anchoring and evolution of the enzyme. *The EMBO Journal, 7*(9), 2705–2713.
Mayer, J. (2007). Erkenntnisgewinnung als wissenschaftliches Problemlösen. In D. Krüger & H. Vogt (Hrsg.), *Theorien in der biologiedidaktischen Forschung* (S. 177–186). Springer.
Mikelskis-Seifert, S., & Duit, R. (2007). Aus Bildung und Wissenschaft – Physik im Kontext. *Der mathematische und naturwissenschaftliche Unterricht*, (5), 265–273.
Neuhaus, B. J., & Spangler, M. (2018). Basiskonzepte und kumulatives Lernen im Biologieunterricht. In M. Wilhelm (Hrsg.), *Wirksamer Biologieunterricht* (S. 137–146). Schneider\Hohengehren GmbH.
Norén, O., & Sjöström, H. (2001). Structure, biosynthesis and regulation of lactase-phlorizin hydrolase. *Näringsforskning, 45*(1), 156–160.
Obermayer-Pietsch, B. M., Bonelli, C. M., Walter, D. E., Kuhn, R. J., Fahrleitner-Pammer, A., Berghold, A., … Leb, G. (2004). Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures. *Journal of Bone and Mineral Research, 19*(1), 42–47.
Olds, L. C., Ahn, J. K., & Sibley, E. (2011). − 13915* G DNA polymorphism associated with lactase persistence in Africa interacts with Oct-1. *Human genetics, 129*(1), 111–113.
Ostermeier, C., Carstensen, C. H., Prenzel, M., & Geiser, H. (2004). Kooperative unterrichtsbezogene Qualitätsentwicklung in Netzwerken. Ausgangsbedingungen für die Implementation im BLK-Modellversuchsprogramm SINUS. *Unterrichtswissenschaft (Weinheim), 32*(3), 215–237. https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:0111-opus-58147
Ostermeier, C., Prenzel, M., & Duit, R. (2010). Improving science and mathematics instruction – The SINUS-project as an example for reform as teacher professional development. *International Journal of Science Education, 32*(3), 303–327. https://doi.org/10.1080/09500690802535942

Parchmann, I., Gräsel, C., Baer, A., Nentwig, P., Demuth, R., & Ralle, B. (2006). „Chemie im Kontext“: A symbiotic implementation of a context-based teaching and learning approach. *International Journal of Science Education, 28*(9), 1041–1062. https://doi.org/10.1080/09500690600702512

Prenzel, M., Artelt, C., Baumert, J., Blum, W., Hammann, M., Klieme, E., & Pekrun, R. (Hrsg.). (2007). *PISA 2006. Die Ergebnisse der dritten internationalen Vergleichsstudie* (1. Aufl.). Waxmann.

Ranciaro, A., Campbell, M. C., Hirbo, J. B., Ko, W.-Y., Froment, A., Anagnostou, P., … Omar, S. A. (2014). Genetic origins of lactase persistence and the spread of pastoralism in Africa. *The American Journal of Human Genetics, 94*(4), 496–510.

Rasinperä, H., Kuokkanen, M., Kolho, K. L., Lindahl, H., Enattah, N. S., Savilahti, E., et al. (2005). Transcriptional downregulation of the lactase (LCT) gene during childhood. *Gut, 54*(11), 1660–1661.

Renkl, A. (1996). Träges Wissen: Wenn Erlerntes nicht genutzt wird. *Psychologische Rundschau, 47*(2), 78–92.

Schwanewedel, J., Hößle, C., & Kattmann, U. (2008). Vorstellung zur Rolle der Gene im Bezug auf die Gesundheit und Krankheit des Menschen. In U. Harms & A. Sandmann (Hrsg.), *Lehr-und Lernforschung in der Biologiedidaktik* (Bd. 3, S. 179–195). Studien.

Segil, N., Roberts, S. B., & Heintz, N. (1991). Mitotic phosphorylation of the Oct-1 homeodomain and regulation of Oct-1 DNA binding activity. *Science, 254*(5039), 1814–1816.

Ségurel, L., & Bon, C. (2017). On the evolution of lactase persistence in humans. *Annual Review of Genomics and Human Genetics, 18*, 297–319.

Sibley, E. (2004). Genetic variation and lactose intolerance. *American Journal of Pharmacogenomics, 4*(4), 239–245.

Stigler, J. W., Gonzales, P., Kwanaka, T., Knoll, S., & Serrano, A. (1999). The TIMSS Videotape Classroom Study: Methods and Findings from an Exploratory Research Project on Eighth-Grade Mathematics Instruction in Germany, Japan, and the United States. A Research and Development Report.

Swallow, D. M., & Troelsen, J. T. (2016). Escape from epigenetic silencing of lactase expression is triggered by a single-nucleotide change. *Nature Structural & Molecular Biology, 23*(6), 505–507.

Tishkoff, S. A., Reed, F. A., Ranciaro, A., Voight, B. F., Babbitt, C. C., Silverman, J. S., … Osman, M. (2007). Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nature Genetics, 39*(1), 31–40.

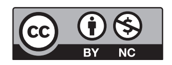
Vosniadou, S. (1994). Capturing and modeling the process of conceptual change. *Learning and Instruction, 4*(1), 45–69. https://doi.org/10.1016/0959-4752(94)90018-3

Vosniadou, S. (1999). Conceptual change research: State of the art and future directions. In W. Schnotz, S. Vosniadou, & M. Carretero (Hrsg.), *New perspectives on conceptual change* (S. 3–14). Pergamon Press.

Vosniadou, S., & Brewer, W. F. (1992). Mental models of the earth: A study of conceptual change in childhood. *Cognitive Psychology, 24*(4), 535–585. https://doi.org/10.1016/0010-0285(92)90018-W

Wadouh, J., Sandmann, A., & Neuhaus, B. (2009). Vernetzung im Biologieunterricht – deskriptive Befunde einer Videostudie. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften: ZfDN, 15*, 69–87.

van Wering, H. M., Bosse, T., Musters, A., Jong, E., Jong, N., Hogen Esch, C. E., … Montgomery, R. K. (2004). Complex regulation of the lactase-phlorizin hydrolase promoter by GATA-4 *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 287*(4), G899-G909.


BY NC



Food Wars Episode II – eine neue Hoffnung: Herstellung laktosefreier Milchprodukte

Inhaltsverzeichnis

Ergänzende Information Die elektronische Version dieses Kapitels enthält Zusatzmaterial, auf das über folgenden Link zugegriffen werden kann [https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_10]. Die Videos lassen sich durch Anklicken des DOI Links in der Legende einer entsprechenden Abbildung abspielen, oder indem Sie diesen Link mit der SN More Media App scannen.

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_10

10.1 Impuls

Die Schule soll einerseits praktische Laborerfahrungen ermöglichen, andererseits stehen rezeptartige Versuchsanleitungen in der Kritik, weil sie bei der Durchführung keine Reflexion fordern und nicht alle wesentlichen Schritte naturwissenschaftlicher Erkenntnisgewinnung durchlaufen (Hofstein & Lunetta, 2004). Insbesondere Fragestellungen und Hypothesen werden selten formuliert oder Experimente selbstständig zur Beantwortung der Fragestellung geplant (Klahr & Dunbar, 1988). Die praktische Einübung der Arbeit mit Mikropipetten sowie der molekularbiologischen Methoden PCR und Agarose-Gelelektrophorese an ausgewählten Alltagskontexten (► Tab. 4.2) können durchgeführt werden, ohne alle Schritte der naturwissenschaftlichen Erkenntnisgewinnung zu durchlaufen, indem beispielsweise die Fragestellung und Hypothesenbildung übersprungen wird. Molekularbiologische Methoden nehmen in Laboren, übertragen auf die schulische Einordnung, eine Zwischenstellung ein. Die Durchführung von PCR oder die Anfertigung Gelen bleibt häufig gleich oder wird nur minimal angepasst, wodurch die Anwendung dieser Arbeitstechniken in die Kategorie „Kochbuchrezept" fallen könnte. Allerdings ist das Ergebnis häufig nicht intuitiv verständlich und muss in Bezug auf eine Hypothese interpretiert werden, womit diese Arbeitstechniken in einen anspruchsvollen Experimentierzyklus und die wissenschaftlichen Erkenntnismethoden eingebettet werden. Sind die möglichen Genotypen in einer Population allgemein bekannt, kann eine Vermutung bzgl. des eigenen Genotyps anhand der phänotypischen Merkmale aufgestellt und durch die individuellen Ergebnisse im Agarose-Gel überprüft werden.

► Beispiel

Zwei Banden beim *Eat, Sleep, Repeat* (► Abschn. 7.3) bedeuten das Vorliegen eines Mischtyps. Lisa formuliert entsprechend eine Vermutung zu ihrem Genotyp: „Ich komme morgens sehr gut aus dem Bett und werde abends früh müde – ich glaube, bei mir läge nur eine Bande für das Lerchen-Allel vor." Ergebnis: Das Gelbild von Lisa zeigt einen Mischtyp. Damit kann diskutiert werden, dass der Genotyp nicht zwingend mit dem wahrgenommenen Phänotyp übereinstimmen muss. Die aufgestellte Hypothese muss falsifiziert werden. Im Rahmen der Diskussion sollte reflektiert werden, inwiefern mögliche Umweltfaktoren die individuelle Wahrnehmung auf der phänotypischen Ebene beeinflussen (► Abschn. 7.6). ◄

Gleichwohl ist die Einübung für die Schüler*innen neuer molekularbiologischer Arbeitstechniken ggf. zunächst auch ohne einen größeren wissenschaftsmethodischen Kontext erforderlich, um Routine in der praktischen Arbeit zu gewinnen und die Lernenden nicht durch die Komplexität der naturwissenschaftlichen Erkenntnisgewinnung zu überfordern. Auf der Basis vertrauter praktischer Routinen können aussagekräftige Experimente geplant und durchgeführt sowie die Ergebnisse eindeutig interpretiert werden, um weitere Kompetenzen zur Erkenntnisgewinnung zu fördern (vgl. *Rahmenkonzept wissenschaftsmethodischer Kompetenzen* (Mayer, 2007, S. 178), ► Kap. 4). Darüber hinaus spiegeln diese standardisierten Vorgehensweisen

der molekularbiologischen Methoden auch den Berufsalltag von Forschenden und Laborassistenten in den Lebenswissenschaften, der Medizin und in weiteren Disziplinen wider, denn dort erfolgt die Anwendung der Standardmethoden auf die gleiche Weise.

10.1.1 Verschiedene Arbeitstechniken – Werkzeugkasten der Forschung

Sie wollen einen Versuchsaufbau, der Ihren Schüler*innen die Grundlagen der Zusammenhänge erklärt (◘ Abb. 10.1)? Sie möchten Ihre Schüler*innen ausgehend von eigenen Fragestellungen selbstständig forschen lassen, in dem Sie relevante Variablen bestimmen und kontrollieren? Sie wollen beim praktischen Arbeiten nicht nur die DNA-Ebene, sondern auch die Proteinebene berücksichtigen? Dann sind Sie nicht allein. Lehrkräfte, die an unseren Fortbildungen teilnahmen, äußerten wiederholt den Wunsch „mit Enzymen" und „wie in der Industrie" zu arbeiten. Entsprechend entstand die Idee zu diesem Kapitel in Ergänzung zu dem vorangegangenen.

Wichtig

Bei der Entwicklung dieses experimentellen Moduls berücksichtigten wir folgende Parameter: Es sollte (1) kostengünstig für den Einsatz an Schulen sein; (2) eine curriculare Relevanz haben sowie (3) interessant für Schüler*innen sein und dies durch die Verknüpfung eines Alltagsphänomens mit industriellen Standards gewährleisten.

Schnell war klar, dass sich zu diesem Zweck nur ein Enzym anbietet: Laktase (LPH). Diese ist im Gegensatz zu anderen Enzymen kostengünstig und in Tablettenform in beliebigen Drogeriemärkten zu erwerben. Allerdings ist ihr industrieller Einsatz aufgrund ihres geringen Preises eher unspektakulär. Um Milchprodukte laktosefrei herzustellen, wird Laktase im Überschuss hinzugegeben. Andere Enzyme werden wiederverwendet, weil ihre Rückgewinnung und Aufreinigung günstiger ist, als jedes Mal neues Enzym zu verwenden. Eine Möglichkeit dazu bietet die Immobilisierung. Allerdings sind standardisierte Immobilisierungsmatrices teuer und teilweise als Schulreagenz verboten. Natrium**alginat** (Abschn. 10.6.4) ist dagegen allgemein aus der molekularen Küche bekannt und bietet an dieser Stelle einen Lösungsansatz und wird hier entsprechend zur Immobilisierung der Laktase eingesetzt. Das letzte Problem ist der Nachweis. Laktose sowie ihre Abbauprodukte Glukose und Galaktose sind jeweils reduzierende Zucker, was zum einen standardisierte photometrische Messungen erschwert. Zum anderen sind die industriell verwendeten Methoden technisch aufwendig und damit teuer. In diesem Modul stellen wir daher sowohl einen direkten als auch indirekten Nachweis vor, wobei der indirekte Nachweis technisch spannender ist und ein Verständnis der Variablenkontrolle fordert. Wie Sie sehen, bedienten wir uns aus unterschiedlichsten Quellen, um industrielle Vorgehensweisen für den Unterricht experimentell zugänglich zu machen. Allerdings ergeben sich dadurch individuelle Adaptionsmöglichkeiten

Glückstädter Anzeiger

Japan-Austausch: Die Bio-AG passt sich an

In Kooperation mit der Molkerei Glücks-Milch werden Milchprodukte laktosefrei

Glückstadt, 11.06.2019
Wie jedes Jahr begrüßt das Gymnasium Glückstadt auch diesen Sommer wieder 25 Schüler*innen aus dem verträumten Takayama, Japan. Doch dieses Jahr haben sich die Schüler*innen etwas ganz Besonderes ausgedacht.

Die Bio-AG:
Seit zwei Jahren gibt es die Bio-AG am städtischen Gymnasium Glückstadt, die sich mit allerhand praktischen Themen, wie der Imkerei und Gemüseanbau beschäftigt.

Moderne Milchverarbeitung
In vielen traditionellen Verarbeitungsprozessen der Milch wird Laktose abgebaut: Alleine 99% bei der Butterherstellung und bis zu 90% bei der Käseherstellung. Die Biotechnologie ermöglicht heutzutage Laktose in Milch und anderen Milcherzeugnissen enzymatisch zu spalten. Dadurch können auch diese Produkte von laktoseintoleranten Personen genossen werden.

Abb. 10.1 **Ausschnitt eines thematisch passenden Zeitungsartikels.** Dieser Zeitungsartikel ist eines von mehreren Elementen, die Ihnen als didaktisches Begleitmaterial online zu den Versuchen zur Verfügung gestellt werden

in Bezug auf Komplexität und Schwerpunksetzung. In Ergänzung zum bisherigen Vorgehen stellen wir in diesem Kapitel daher eine exemplarische experimentelle Planung vor. Für ein leichteres Verständnis orientiert sich der hier vorgestellte Beispielaufbau an der übergeordneten Fragestellung für den Biologieunterricht: **Wie werden laktosefreie Milchprodukte hergestellt?**

10.1.2 Forschendes Lernen – aber richtig: Wie werden laktosefreie Milchprodukte hergestellt?

Aus der übergeordneten Fragestellung leiten sich bereits erste Annahmen ab. Sie können Hypothesen durch Ihre Schüler*innen erarbeiten lassen, da sie den Ausgangspunkt für die Planung von Experimenten bilden (Abschn. 10.7.2).

H1: Das Enzym Laktase (LPH) kann Laktose in herkömmlicher Milch spalten.

Eine Kurzanleitung zum richtigen Vorgehen bei der Hypothesenbildung finden Sie unter Abschn. 10.7.2. Zu diesen Hypothesen müssen aussagekräftige Experi-

mente geplant werden. Hierbei müssen viele Variablen kontrolliert werden, um die Ergebnisse interpretieren und eine eindeutige Aussage zu den Hypothesen treffen zu können. Die Hypothesenbildung ist komplex und fällt vielen Schüler*innen schwer. Wie Sie diese bei dem Prozess begleiten können und was bei der korrekten Hypothesenbildung beachtet werden muss, wird detailliert in ► Abschn. 10.7 erklärt. Aus der übergeordneten Forschungsfrage „Wie werden laktosefreie Milchprodukte hergestellt?" leitet sich eine zweite Forschungsfrage ab: „Wie kann der Abbau von Laktose nachgewiesen werden?" Diese zweite Frage betrifft jedes Forschungsvorhaben, ist im speziellen Fall der Schule besonders relevant, da nicht alle gängigen Nachweismethoden zur Verfügung stehen.

Die Entfernung der Laktose aus Milch und die Überprüfung der erfolgten Reaktion geschieht im hier vorgestellten Experimentierplan schrittweise. In Deutschland gelten Lebensmittel als „laktosefrei" bei einem Laktosegehalt von 0,1 g auf 100 g Lebensmittel.[1] Die bei der Laktasespaltung entstehenden Zucker können als Ausgangsstoffe für den Hefe-Stoffwechsel dienen. Dass Hefe bestimmte Zucker verstoffwechseln kann, ist Schüler*innen bereits aus dem Alltag bekannt, z. B. Brot- und Pizzabacken, Bierbrauen. Auch hierzu können Ihre Schüler*innen entsprechende Hypothesen aufstellen, z. B.:

H2: Hefe-Enzyme können die Zucker, die bei der Spaltung von Laktose durch Laktase entsteht, im Stoffwechsel abbauen. Diese Reaktion kann zum Nachweis genutzt werden.

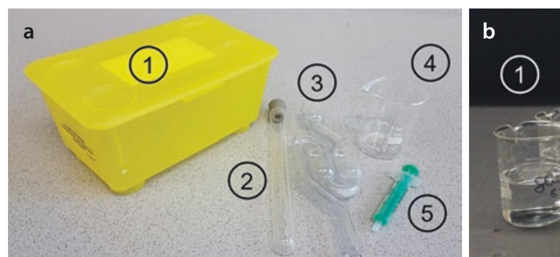
10.1.3 Adaptivität durch Kontextuierung

Die vorgestellte Versuchsplanung ist hochgradig anpassungsfähig. Zwar stellen wir die fachlichen Grundlagen in den Kontext der laktosefreien Milchprodukte, Sie können ein vergleichbares Vorgehen und die verwendeten Arbeitstechniken jedoch auch in weiteren Zusammenhängen umsetzen, weil das Prinzip von Enzymreaktionen übertragbar ist und die vorgestellte experimentelle Planung mithilfe der Nachweisreaktionen auf die Eigenschaften von ausgewählten Zuckern abzielt. Entsprechend kommen als thematische Rahmung auch Zuckerkonsum, Stoffwechsel von Mikroorganismen, Enzymkinetik, Proteinchemie, Prozessverfahren in der Lebensmittelindustrie in Frage. Geben Sie sich selbst und Ihren Schüler*innen die Möglichkeit, das Experimentieren neu zu entdecken.

Aus dem Grundgedanken der Herstellung laktosefreier Milchprodukte durch Laktase und dessen Nachweis im Schulkontext ergeben sich die oben angedeuteten Variationsmöglichkeiten. Da Laktase nach industriellen Maßstäben ein vergleichsweise günstiges Enzym ist, wird es einfach zur Milch hinzugegeben, ohne den Anspruch, es im Anschluss herauszufiltern. Bei den meisten anderen Enzymen ist das nicht der Fall, weshalb diese immobilisiert werden (Abschn. 10.6.3).

---

1 Online Auftritt LGL Bayern: ► https://www.lgl.bayern.de/lebensmittel/warengruppen/wc_02_milchprodukte/ue_laktosefreie_produkte.htm.



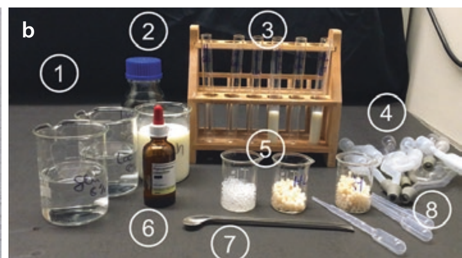


Abb. 10.2 **Übersicht der Reagenzien, Lösungen und Materialien. a** Darstellung der benötigten Materialien für die *micro scale*-Anwendung 1: Aufbewahrungsbox, 2: Kleines Reagenzglas mit Loch-Stopfen, 3: Gärungsröhrchen, 4: Becherglas (50 mL), 5: Spritze (10 mL). **b** Übersicht über sämtliche Materialien und Reagenzien 1: Lösungen (Glukose, Laktose, Milch), 2: Kalkwasser, 3: Sechs Reagenzgläser im Reagenzglasständer, 4: Sechs Gärungsröhrchen, 5: Hergestellte Alginat-Kügelchen (Laktase, Hefe, Hefe-Laktase), 6: Indikator, 7: Pulverlöffel zum Einfüllen der Alginat-Kügelchen, 8: Pipetten zum Einfüllen der Lösungen

Dieses Prozessverfahren und seine Hindernisse kann selbst zum Schwerpunkt von Untersuchungen der Schüler*innen werden, z. B.:
- Wird die Enzymreaktion durch die Immobilisierung von Laktase beeinflusst?
- Beeinflusst die Konzentration der Trägermatrix (hier: Alginat) die Enzymreaktion?

In diesem Kontext können Sie Laktase auch als Beispielenzym für die Erforschung der Enzymkinetik unter variablen Bedingungen verwenden, z. B.:
- Welchen Einfluss haben Substratkonzentration, Temperatur oder der pH-Wert auf die Reaktionsgeschwindigkeit?

Für den Nachweis des Laktose-Abbaus bedienen wir uns in diesem Setting der Hefe. Als Modellorganismus kann diese unabhängig von laktosefreien Milchprodukten ebenfalls fokussiert werden:
- Kann Hefe jeden Zucker verstoffwechseln?
- Welche anderen Energiequellen außer Kohlenhydrate werden von Hefen im Stoffwechsel genutzt?

10.2 Planung und Vorbereitung des Klassenraums

Die Umsetzung der Experimente kann in jedem Raum, der mit einem Waschbecken ausgestattet ist, erfolgen. Weitere Voraussetzungen an die Räumlichkeit müssen nicht geschaffen werden. Informationen zu den grundlegenden Vorbereitungsmaßnahmen durch Sie als Lehrkraft finden Sie im ▶ Abschn. 10.5. Eine Übersicht aller benötigten Reagenzien und Materialien zur Durchführung dieses Versuchs im *micro scale*-Maßstab ist in Abb. 10.2 gezeigt.

Wichtig
- Pro Gruppe ein Müllgefäß
- Pro Gruppe ein Folienstift

- *Micro scale*-Box: Reagenzglas mit Stopfen, Gärungsröhrchen, Becherglas (20 mL), Einwegspritze (10 mL), Einwegpipetten (3 mL)
- Magnet-Heizrührer inkl. Rührfisch
- Mindestens eine Waage (Genauigkeit d = 0,01)
- Messzylinder (z. B. 100 mL)
- Bechergläser zur Herstellung der Lösungen (mind. 50 mL)
- Erlenmeyerkolben, Weithals (mind. 250 mL)
- Kleine Bechergläser zur Lagerung der Alginat-Kügelchen (20 mL)
- Reagenzglasständer
- Pulverlöffel und Spatel
- Teesieb zum Abtrennen der Alginat-Kügelchen aus der Lösung
- Reagenzien und Lösungen (Abschn. 10.5)

Wichtig
Besorgen Sie im Vorfeld noch Bäckerhefe und Laktase-Tabletten. Letztere sind in einer Reihe von verschiedenen Ausführungen in Super- oder Drogeriemärkten erhältlich. Natrium-Alginat können Sie online erwerben oder in einer Apotheke.

Testen Sie Ihre Bäckerhefe-Lösung vorab mit dem Glucose-Oxidase-Streifen, da in Abhängigkeit von der Zusammensetzung ggf. ein positiver Nachweis erfolgen kann und dann das Versuchskonzept nicht funktioniert. Weichen Sie auf ein Alternativprodukt aus.

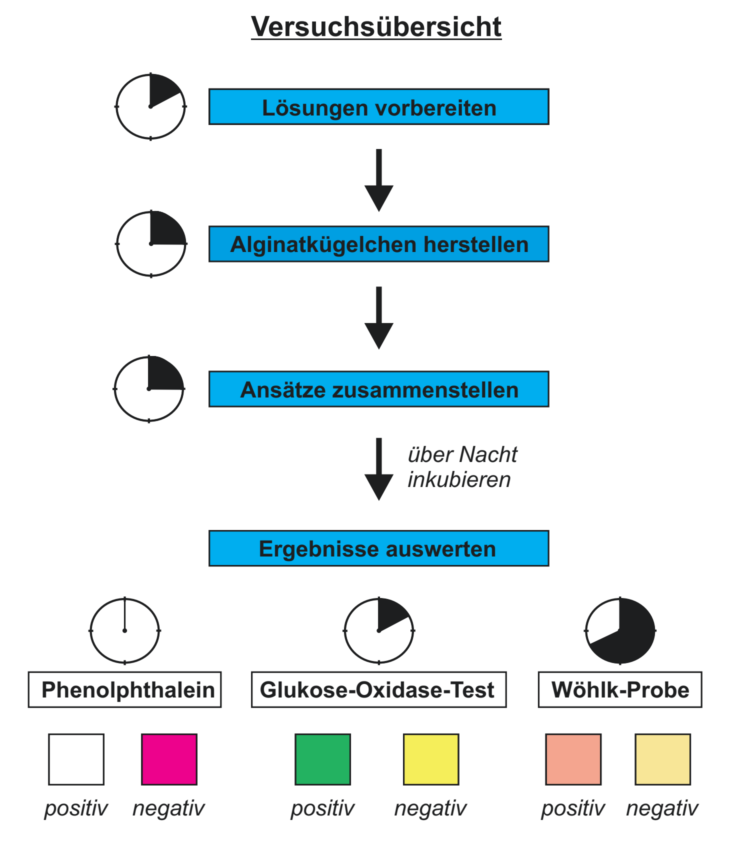
Wichtig
Setzten Sie die Alginat-Lösung einen Tag vor der Versuchsdurchführung an, da Natrium-Alginat sehr lange braucht, um sich vollständig zu lösen. Alternativ kann der Prozess durch Erhitzen der Lösung beschleunigt werden, aber auch dann müssen Sie ausreichend Zeit einplanen, damit die Lösung wieder auf Raumtemperatur abkühlen kann.

Die Vorbereitung der anderen Lösungen kann je nach individueller Planung ebenfalls durch Sie im Vorfeld geschehen oder als Arbeitsaufträge an die Schüler*innen gegeben werden. Eine detaillierte Aufstellung aller verwendeten Reagenzien, Lösungen und Materialien ist in ► Abschn. 10.5 zu finden. Entfernen Sie vor Unterrichtsbeginn alle nicht zum Versuch gehörenden Materialien von den Schulbänken. Bereiten Sie alle nötigen Materialien vor und bauen Sie die für den Versuch benötigten Geräte auf (◘ Abb. 10.2).

Wichtig
Es empfiehlt sich, während des gesamten Versuchs Handschuhe zu tragen. Weisen Sie Ihre Schüler*innen auf die allgemeinen Verhaltensregeln in einem Labor hin.

10.3 Durchführung

Sie sind bei der Durchführung dieses Modulabschnitts völlig frei und können verschiedene Schwerpunkte setzen, auf diese wird unter ► Abschn. 10.7 genauer eingegangen. In diesem Kapitel stellen wir die Planung der Experimente zu den unter



■ Abb. 10.3 **Versuchsübersicht Enzymimmobilisierung und ihre Anwendung mit Alginat-Kügelchen.** Die Versuchsdurchführung ist je nach Ausführlichkeit in ein bis zwei getrennten Doppelstunden möglich. Am ersten Tag werden die Lösungen vorbereitet, die Alginat-Kügelchen hergestellt und die verschiedenen Reaktionsansätze gestartet. Dabei kann ein individueller Fokus auf eine Reihe von Fragestellungen bzw. Arbeitstechniken gelegt werden. Die Reaktionen werden über Nacht inkubiert. Wenn die erfolgreiche Enzymreaktion indirekt über die Kohlendioxid-Entstehung nachgewiesen werden soll, können die Ergebnisse von der Lehrkraft dokumentiert und zur Diskussion in den Unterricht mitgebracht werden. Weitere Nachweisreaktionen können an einem zweiten Versuchstag durchgeführt werden: **Glukose-Oxidase-Test** und Wöhlk-Probe

► Abschn. 10.1 genannten Hypothesen vor, welches in einer kleinstmöglichen Anzahl an Ansätzen den größtmöglichen Vergleich der Variablen erlaubt und sich auf die im Impuls gestellten Forschungsfragen bezieht. Falls Sie andere Forschungsfragen/Hypothesen wählen, müssen Sie die Ansätze entsprechend anpassen. Zur Überprüfung der Hypothesen wird mit immobilisierten Enzymen gearbeitet, weil so das industrielle Herstellungsverfahren „im Kleinformat" nachvollzogen werden.

In ■ Abb. 10.3 ist die Versuchsübersicht unter Angabe der praktischen Durchführungsschritte gezeigt. Damit Sie als Lehrkraft einen ersten Eindruck darüber bekommen, wie viel Zeit die praktische Durchführung der einzelnen Teilschritte in Anspruch nimmt, sind entsprechende Zeitangaben in die Abbildung integriert. Erfahrungsgemäß lässt sich dieser Versuch sehr gut in zwei getrennten Doppelstunden umsetzten. Die verschiedenen Reaktionsansätze werden über Nacht ste-

hen gelassen. Erst am Folgetag können die Ergebnisse ausgewertet werden, da für einen erfolgreichen Kohlendioxid-Nachweis in diesem Versuch eine Reaktionsdauer von mindestens vier Stunden benötigt wird. Sofern die Auswertung der Reaktionsansätze lediglich über die Kohlendioxid-Entstehung erfolgen soll, können als Alternative die Ergebnisse von Ihnen dokumentiert werden und in den Unterricht zur Diskussion mitgebracht werden. Hierbei ist eine Umsetzung des Versuchs durch die Schüler*innen in einer Doppelstunde möglich. Unsere Einschätzungen der Zeiten können je nach Jahrgangsstufe und praktischem Erfahrungsbereich Ihrer Schüler*innen abweichen. Anhand der Fragestellung sollte entschieden werden, welche Formen der Alginat-Kügelchen hergestellt werden. Wollen Sie abweichend von unserem Vorschlag beispielsweise nur auf den Stoffwechsel der Hefe mit verschiedenen Zuckerderivaten eingehen, brauchen Sie keine Laktase-Kügelchen herzustellen. Wollen Sie aber den Einfluss der Immobilisierung auf die Enzymreaktion untersuchen, brauchen Sie alle Kugelvarianten und jeweils Ansätze, bei denen die Reagenzien nicht in Alginat eingeschlossen werden. Unter ► Abschn. 10.1.3 finden Sie weitere Anregungen, wie Sie mit Schüler*innen Forschungsfragen und ggf. auch dazu passende Hypothesen bilden können.

Aus der exemplarischen Forschungsfrage mit Hypothesen unter ► Abschn. 10.1 ergeben sich die folgenden Ansätze: Milch ist eine komplexe Lösung mit vielen Inhaltsstoffen, darunter Laktose. Da Laktose direkt nur über die Wöhlk-Probe nachgewiesen werden kann und dieser Nachweis einige Hürden bei der Umsetzung im Klassenraum bietet, z. B. Abzug oder noch ungeklärter Reaktionsmechanismus (► Abschn. 10.3.3.4), stellen wir Ihnen auch Nachweismethoden der anderen beteiligten Stoffe vor. Beispielsweise muss ausgeschlossen werden, dass die Hefe andere Komponenten verstoffwechseln kann als Glukose, z. B. Milchprotein, oder dass Kohlendioxid bereits aufgrund der in Trockenhefe enthaltenen Starter entsteht. Dies ist sowohl für die Reaktion der Laktase (Spaltung von Laktose) als auch für die Reaktion der Hefe (Abbau der Glukose) wichtig. Auf diese Weise können durch die Nachweisreaktionen einzelne Reaktionskomponenten separat überprüft und damit auch falsch-positive Reaktionen ausgeschlossen werden. Im Folgenden werden die Durchführungsschritte der einzelnen Methoden im Detail beschrieben.

Tipp

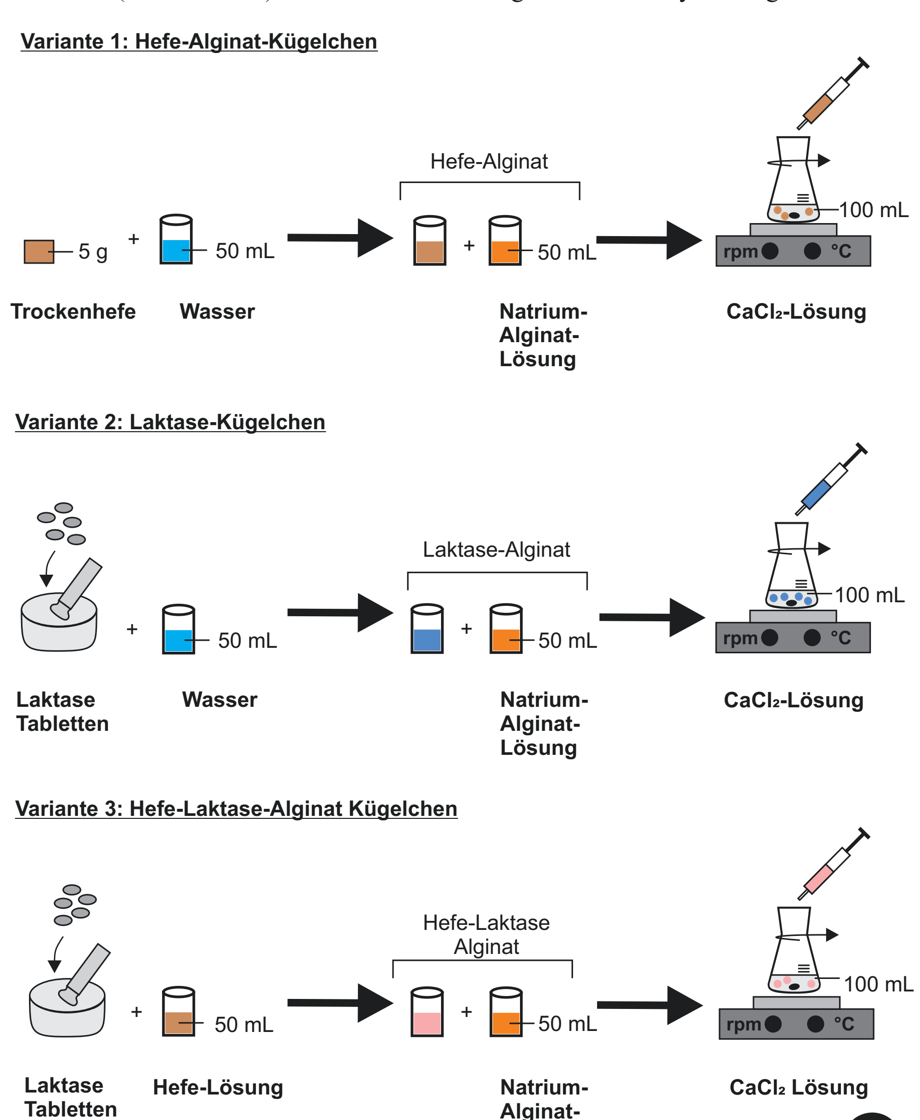
In diesem Versuch kann jede*r Schüler*in seine eigenen Ansätze analysieren. Es empfiehlt sich, ein einheitliches Beschriftungssystem festzulegen, z. B. die Initialen. Das erleichtert den Schüler*innen, ihre eigenen Ansätze auch nach der Inkubation über Nacht zu identifizieren.

Wichtig

Achten Sie bei der Durchführung auf die allgemeingültigen Prinzipien des sicheren Arbeitens im Labor, um Schüler*innen frühzeitig für diese zu sensibilisieren. Es empfiehlt sich, während des gesamten Versuchs Handschuhe zu tragen.

10.3.1 Herstellung der Alginat-Kügelchen

Je nach Fragestellung (▶ Abschn. 10.1.3) können die Schüler*innen in Tandems oder in größeren Gruppen die für ihre Experimente benötigten Alginat-Kügelchen herstellen (◘ Abb. 10.4). Zur Immobilisierung von z. B. Enzymen eignet sich hier-



◘ **Abb. 10.4** **Herstellung verschiedener Alginat-Kügelchen.** Die über Nacht vorbereitete Natrium-Alginat-Lösung wird je nach gewünschter Alginat-Kügelchenvariante zur entsprechenden Lösung gegeben (Anleitungen zur Herstellung der Lösungen in ▶ Abschn. 10.5). **Variante 1**: Reine Hefe-Alginat-Kügelchen (H), **Variante 2**: Reine Laktase-Alginat-Kügelchen (L), **Variante 3**: Co-Immobilisierung von Hefe und Laktase in Alginat-Kügelchen (HL). Es muss darauf geachtet werden, dass sich beim Mischen keine Blasen bilden (▶ https://doi.org/10.1007/000-6fy)

für Alginat zum Einsatz an Schulen besonders, weil es frei verkäuflich, kostengünstig und ungefährlich ist.

Wichtig

Die in Abb. 10.4 beschriebene Anleitung zur Herstellung von Alginat-Kügelchen reicht für etwa zehn Ansätze pro Kugel-Sorte. Alle Angaben können nach Bedarf angepasst werden.

Tipp

Vorsichtig umrühren, um Blasenbildung zu vermeiden, da sonst die Kugelbildung beeinträchtigt wird.

- Laktase-Tabletten im Mörser zerkleinern, um das Auflösen zu erleichtern.
- Pro 10 mL Wasser oder Hefe-Lösung wird eine Laktase-Tablette benötigt.
  Hefe-Lösung (H) bzw. Laktase-Lösung (L) bzw. HL-Lösung zu einer äquivalenten Menge Natrium-Alginat-Lösung hinzugeben.

Wichtig

Zu einer 50 mL Laktase-Lösung (enthält fünf Laktase-Tabletten), werden 50 mL Natrium-Alginat-Lösung zugegeben.

- Alginat-Lösungen (H, L oder HL) jeweils mit einer Einwegspritze (10 mL) aufziehen.
- Einen 250 mL Erlenmeyerkolben mit 100 mL Calciumchlorid-Lösung füllen.
  - Die Calciumchlorid-Lösung wird bei 300 UpM (Umdrehungen pro Minute) gerührt.
    Ist kein Magnetrührer vorhanden, kann der Kolben alternativ auch geschwenkt werden.
- Tropfen Sie die Alginat-Lösung langsam mit ihrer Spritze in die Calciumchlorid-Lösung, die Alginat-Kügelchen gelieren dabei.
- Die Alginat-Kügelchen können anschließend abgesiebt und sofort verwendet werden.

Wichtig

Sie können die Alginat-Kügelchen mindestens zwei Tage im Kühlschrank lagern, ohne dass diese ihre Funktionalität verlieren. Lagern Sie die Kügelchen feucht, um ein Austrocknen zu verhindern. Die Aufbewahrung in Flüssigkeit wird durch das Aufquellen der Kügelchen nicht empfohlen. Dichten Sie die Gefäße zur Lagerung ab, z. B. mit Frischhaltefolie oder Parafilm.

Für größere Forschungsansätze mit Alginat können auch Büretten für die Herstellung der Kügelchen genutzt werden, da dadurch eine weitere Variablenkontrolle möglich wird.

10.3.2 Vorbereitung der Reaktionsansätze

Die hergestellten Alginat-Kügelchen können nun dazu genutzt werden, um Laktose enzymatisch aus Milch zu entfernen. Die verschiedenen Kugelvarianten dienen der Variablenkontrolle. Im Folgenden wird beispielhaft ein Set an Versuchsansätzen vorgestellt (◘ Abb. 10.5), das sich an der Beispielforschungsfrage mit ihren Hypothesen orientiert.

Experimentalansätze:

1. Milch mit Laktase-Alginat (M LA): In Abhängigkeit von der verwendeten Milch dient dieser Ansatz als Experimentalansatz. Die Laktase spaltet das Substrat Laktose in (tierischer) Milch in Glukose und Galaktose. Die Glukose kann direkt oder indirekt nachgewiesen werden.
2. Milch mit Laktase-Hefe-Alginat (M LHA): Mit diesem Ansatz kann das Reaktionsprodukt Glukose aus der Laktase-Reaktion (Ansatz 1) über den Hefe-Stoffwechsel weiter abgebaut werden. Bei diesem Stoffwechselweg entsteht als Endprodukt Kohlendioxid, das seinerseits über einen Indikator nachgewiesen werden kann.

Kontrollansätze:

3. Laktose-Lösung mit Laktase-Alginat (Positiv-Kontrolle, LL LA): Mit diesem Kontrollansatz kann die Funktionstüchtigkeit der Laktase-Tabletten überprüft werden. Verwendet man Hefe-Laktase-Alginat, kann auch der Gesamtablauf der Reaktion mit Folgereaktion überprüft werden.
4. Glukose-Lösung mit Hefe-Alginat (Positiv-Kontrolle GL HA): Mit diesem Kontrollansatz wird überprüft, ob Hefe Glukose abbauen kann; dieser Stoffwechselweg ist die Voraussetzung dafür, dass über die Kohlendioxidentstehung der Abbau von Laktose durch Laktase indirekt nachgewiesen werden kann. Variationen dieses Ansatzes eignen sich zur Untersuchung des Zuckerstoffwechsels von Hefen ohne vorgeschaltete Laktase-Reaktion (► Abschn. 10.1.3).
5. Laktose-Lösung mit Hefe-Alginat (Negativ-Kontrolle LL HA): Mit diesem Kontrollansatz wird überprüft, ob Hefe allein bereits Laktose abbauen kann. Könnte Hefe die Laktose unter Produktion von Kohlendioxid abbauen, wäre der indirekte Nachweis der Laktase-Reaktion im Experimentalansatz 2 nicht eindeutig. Um auszuschließen, dass in der verwendeten Hefe Stoffe enthalten sind, die ebenfalls zu einer Kohlendioxid-Entstehung führen, sollte eine zweite Negativ-Kontrolle von Hefe-Alginat in Wasser durchgeführt werden. Auf diese wurde der Einfachheit halber hier verzichtet.
6. Milch mit Hefe-Alginat (Negativ-Kontrolle M HA): Aus diesem Ansatz kann geschlossen werden, ob in Milch andere Stoffe vorhanden sind, die von Hefe zu Kohlendioxid abgebaut werden können. Wäre dies der Fall, könnte der Kohlendioxid-Nachweis ebenfalls nicht zur Überprüfung der Laktase-Reaktion herangezogen werden.

Mit den Kontrollansätzen 4 bis 6 wird die Substratspezifität der Enzymausstattung der Hefe geprüft. Sie benötigen alle drei Ansätze, um die Herkunft des Kohlendioxids auf den Abbau von Glukose zurückführen zu können.

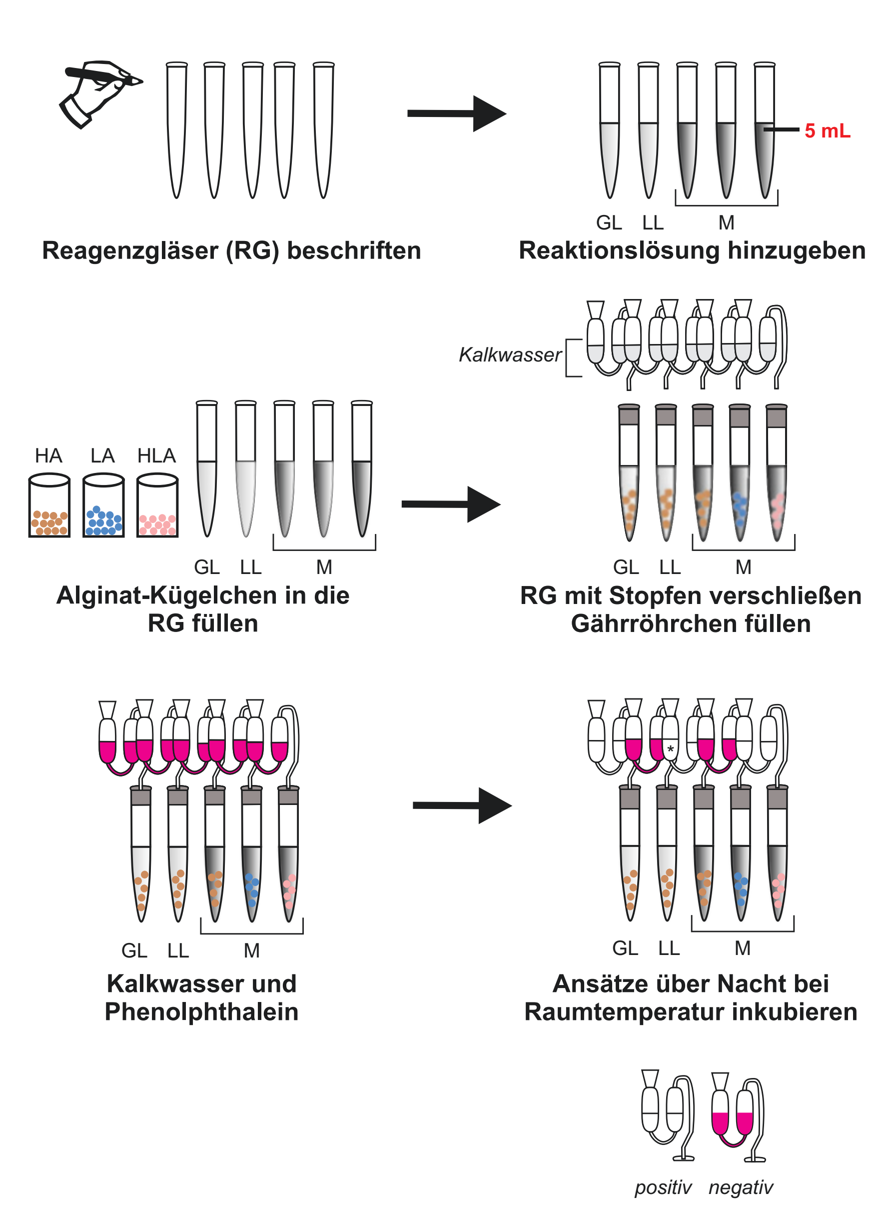


Abb. 10.5 **Vorbereitung möglicher Reaktionsansätze.** Die hergestellten Alginat-Kügelchen können sofort weiterverwendet werden. Entsprechend der geplanten Anzahl von Ansätzen werden Reagenzgläser, dazu passende Stopfen mit Loch und Gärungsröhrchen vorbereitet. Alle Ansätze sollten eindeutig beschriftet werden. Zunächst wird die Reaktionslösung in die RG gefüllt, anschließend die Alginat-Kügelchen. Folgende Lösungen werden benötigt: GL = Glukose-Lösung, LL = Laktose-Lösung, M = Milch. Als Alginat-Kügelchen-Varianten werden verwendet: HA = Hefe-Alginat, LA = Laktase-Alginat, HLA = Hefe-Laktase-Alginat. Alles mit den Gärungsröhrchen-Stopfen verschließen, Kalkwasser und Indikator zugeben und die Ansätze über Nacht inkubieren. Als **Positivkontrolle** dient Ansatz GL HA (Kontrollansatz 4 im Text), als **Negativkontrolle** dient Ansatz LL HA (Kontrollansatz 5 im Text). Das mit * markierte Reagenzglas stellt einen Sonderfall dar (zusätzliche Infos in Tab. 10.1)

Tipp

Als Faustregel gilt: Flüssigkeitsstand der Reaktionslösung etwa bis zur Hälfte der Reagenzglashöhe und mit Alginat-Kügelchen etwa bis zur Hälfte des Flüssigkeitsstands auffüllen. Dabei muss beachtet werden, dass falls die Durchführung der Wöhlk-Probe (Ruppersberg et al., 2019) geplant ist, mindestens 3 mL Reaktionslösung verwendet werden müssen.

- Entsprechend den geplanten Ansätzen werden Reagenzgläser (RG), Stopfen mit Loch und Gärungsröhrchen vorbereitet. In jedes RG werden etwa 5 mL der verschiedenen Reaktionslösungen gegeben:
  - 8 %-ige Glukose-Lösung
  - 8 %-ige Laktose-Lösung
  - Milch (laktosehaltig, laktosefrei)
  - Wasser
- Die vorbereiteten Alginat-Kügelchen werden entsprechend den Ansätzen in die RG gefüllt. Die benötigte Menge entspricht etwa drei gehäuften Pulverlöffeln.
- Die RG werden mit Stopfen und Gärungsröhrchen verschlossen.

Wichtig

Achten Sie darauf, dass der Stopfen das RG luftdicht abschließt, aber verschließen Sie das Gärungsröhrchen nicht.

- Jedes Gärungsröhrchen wird mit 3–5 mL Kalkwasser gefüllt, sodass der untere Bogen vollständig mit Flüssigkeit verschlossen ist (Abb. 10.6).

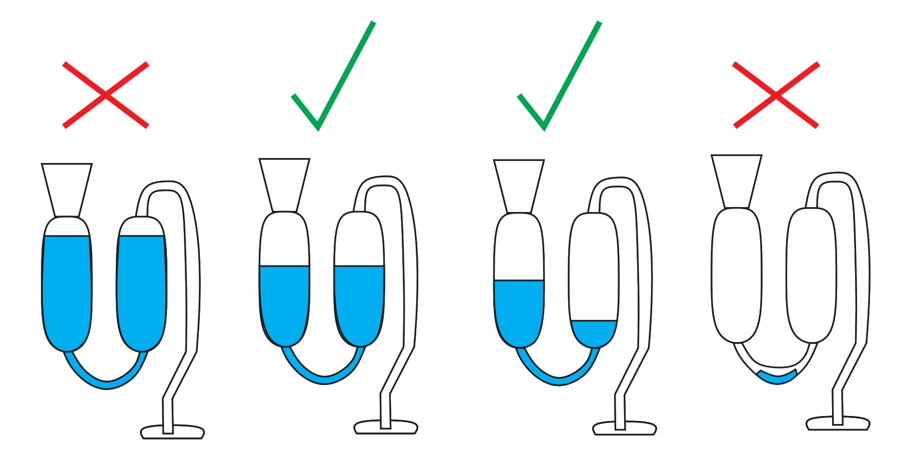


Abb. 10.6 Skizze verschiedener Füllstände von Gärungsröhrchen. Das Konzept von Gärungsröhrchen ist, dass Gase erst durch eine Flüssigkeitssäule wandern, bevor sie das Reaktionsgefäß verlassen. Um das zu gewährleisten, zeigt die Abbildung ideale Füllstände

- Anschließend werden drei Tropfen Indikator Phenolphthalein (KMK, 2019) hinzugegeben. Dabei bildet sich die eindeutig violette Farbe. Alternativ kann auch Blaukrautsaft als Indikator verwendet werden. Im Folgenden wird nur von Phenolphthalein gesprochen.
- Alle Ansätze werden über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert.

Im Anschluss können die Beobachtungen der jeweiligen Versuchsansätze notiert werden und die Versuche anhand des Kohlendioxid-Nachweises ausgewertet werden. Weitere Nachweisreaktionen (**Glukose-Oxidase-Test**, Wöhlk-Probe) sind ebenfalls möglich (► Abschn. 10.3.3.3 und 10.3.3.4).

10.3.3 Nachweisreaktionen

Da bei der Entwicklung dieses Forschungssettings die Praktikabilität an Schulen im Vordergrund stand, stellen wir einen indirekten Nachweis in den Vordergrund, da dieser direkt in den Experimentaufbau integriert werden kann. Dabei handelt es sich um den indirekten Nachweis des Laktose-Abbaus mittels Kohlendioxidbildung über den nachfolgenden Glukose-Abbau durch Hefe. Den direkten Nachweis der Laktose finden Sie in ► Abschn. 10.3.3.4.

10.3.3.1 Direkte und indirekte Nachweisverfahren

Laktose, Glukose sowie Galaktose sind in Wasser gelöst farblos. Alle drei Saccharide sind reduzierende Zucker. Milch und laktosefreie Milch sind weiß. Um eine Reaktion verfolgen zu können, die nicht mit dem bloßen Auge sichtbar ist, bedient man sich sogenannter Nachweisreaktionen. Diese unterteilt man in direkte und indirekte Nachweise (Huber, 1996). In ◘ Abb. 10.7 sind die Nachweisreaktionen mit der eigentlichen Hauptreaktion in Beziehung gesetzt. Bei einem direkten Nachweis identifiziert man einen ursächlichen Faktor. Am Beispiel einer chemischen Reaktion kann man entweder die Edukte oder die Produkte und deren veränderte Konzentrationen verfolgen. Von einem indirekten Nachweis spricht man, wenn zur Identifizierung eine Größe analysiert wird, die vom ursächlichen Faktor abhängt. In der Chemie lässt man typischerweise ein Produkt weiter reagieren und das entstehende Folgeprodukt wird nachgewiesen (◘ Abb. 10.7). Um einen bestimmten Einfluss auszuschließen bzw. zu testen, werden **Positiv- und/oder Negativkontrollen** durchgeführt. Diese zeigen eindeutig die zu erwartenden Ergebnisse und erleichtern sowohl die Einordnung der Ergebnisse der Experimente als auch das Ausschließen fehlerhafter Reagenzien oder anderer Experimentierfehler. Dieses Konzept wird im Folgenden mit den hier verwendeten Nachweisreaktionen in Beziehung gesetzt und erläutert.

- Laktose kann direkt durch die sogenannte Wöhlk-Probe nachgewiesen werden.
- Glukose lässt sich direkt durch den Glukose-Oxidase-Test nachgewiesen.

Bei dem Glukose-Oxidase-Test (GOD-Test) (► Abschn. 10.3.3.3) handelt es sich um einen zusammengesetzten enzymatischen Nachweis, der auf der Oxidation von Glukose durch das Enzym Glukose-Oxidase basiert. Dabei entsteht Gluconolacton und Wasserstoffperoxid. Letzteres wird in einer nachgeschalteten Reaktion

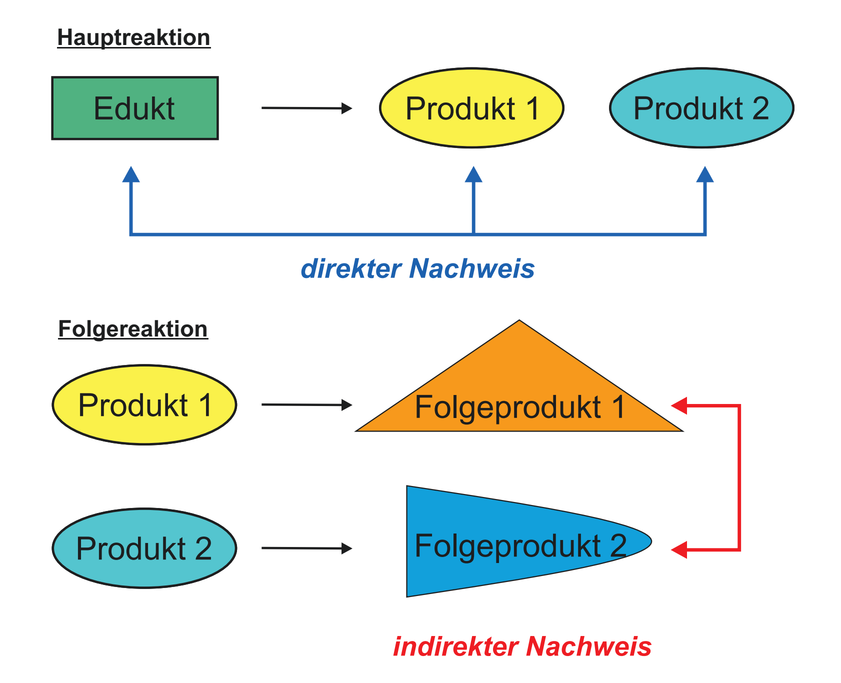


Abb. 10.7 Direkte und indirekte Nachweisreaktionen. Schematischer Zusammenhang der direkten (blau) und indirekten (rot) Nachweisreaktion mit der zu analysierenden Hauptreaktion

von einem weiteren Enzym (Peroxidase) umgesetzt und lässt sich durch einen Farbumschlag visualisieren. Normalerweise dienen die hier verwendeten Teststreifen zur Analyse des Glukosegehalts im Urin. Hierbei wird der Test als quantitative Nachweismethode eingesetzt. Die unterschiedliche Farbintensität der Teststreifen korreliert dabei mit der im getesteten Urin vorhandenen Glukosekonzentration.

Wichtig

Hier wird der GOD-Teststreifen als qualitativer Nachweis verwendet, da die Glukosekonzentrationen der hier durchgeführten Versuche deutlich höher sind als das Detektionslimit der GOD-Teststreifen. Ein qualitativer Test gibt nur an, ob die zu analysierende Substanz vorliegt oder nicht.

- Kohlendioxid ist ein Stoffwechselprodukt der Hefe beim Abbau von Glukose und kann damit als indirekter Nachweis verwendet werden (► Abschn. 10.3.3.2.).

10.3.3.2 Kalkwasserprobe zum Nachweis von Kohlendioxid

Kohlendioxid ist sehr gut wasserlöslich. Im Vergleich zu Sauerstoff (0,4 gL^{-1}) lösen sich von Kohlendioxid bis zu 1,6 gL^{-1} in Wasser (Wisotzky et al., 2018, S. 65). Im Rahmen der Kalkwasserprobe reagiert Kohlendioxid mit Wasser zu Hydrogencarbonat und Carbonat-Ionen. Letztere reagieren mit Calciumhydroxid weiter zu wasserunlöslichem Calciumcarbonat. Dieses fällt aus und kann als Trübung der Lösung im Gärungsröhrchen beobachtet werden. Der Nachweis kann mit dem

Phenolphthalein in der Lösung unterstützt werden, weil sich während Reaktion der pH-Wert von basisch nach neutral ändert und infolgedessen den Indikator entfärbt.

Dieser indirekte Nachweis wird zeitgleich zu den Reaktionsansätzen durchgeführt und kann unmittelbar im Anschluss ausgewertet werden. Bleibt der Indikator Phenolphthalein violett, ist kein Kohlendioxid entstanden, der Nachweis ist negativ. Tritt eine Entfärbung der Indikatorlösung auf, ist Kohlendioxid entstanden, ein positiver Nachweis liegt vor. Weitere Hinweise zur Interpretation finden Sie unter ► Abschn. 10.4.

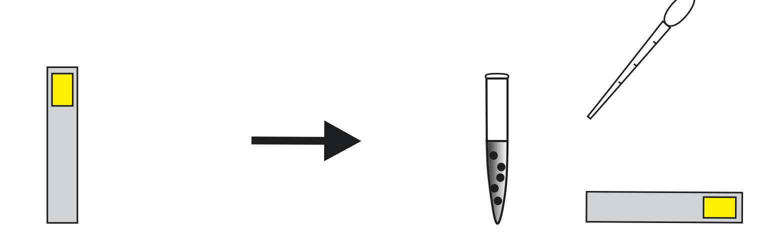
10.3.3.3 Glukose-Oxidase-Test zum Nachweis von Glukose

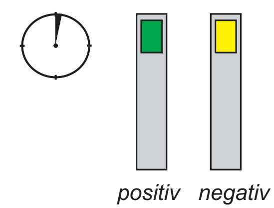
Der Glukose-Oxidase-Test wird mit medizinischen Teststreifen der Firma Macherey-Nagel durchgeführt (◘ Abb. 10.8).

- Pro Ansatz wird ein GOD-Teststreifen aus der Packung entnommen.

> **Wichtig**
> Vermeiden Sie das Berühren der gelben Testfläche mit den bloßen Fingern.

- Ein Tropfen der zu testenden Lösung wird auf das Testfeld getropft. Alternativ können die Streifen für 1 sec in die zu testende Lösung gehalten werden.
- Das Ergebnis kann nach 1 min abgelesen werden.





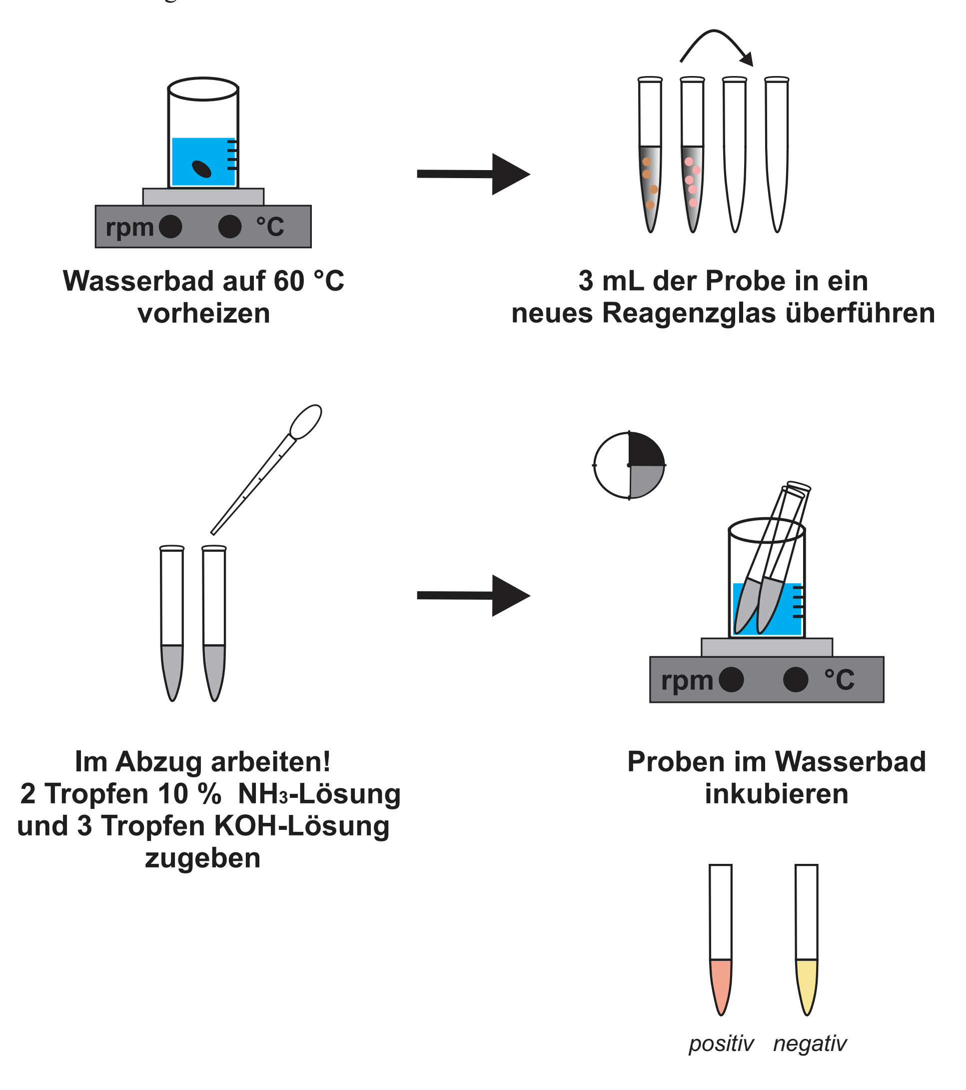
◘ **Abb. 10.8** **Durchführung des Glukose-Oxidase-Tests.** Mit den GOD-Teststreifen kann in wenigen Minuten ermittelt werden, ob Glukose in der Lösung vorhanden ist oder nicht. Dazu kann entweder ein Tropfen der Testlösung auf den Streifen pipettiert werden, oder der Streifen für 1 sec in die Testlösung gehalten werden. Ist Glukose vorhanden, färbt sich der Teststreifen grün

Bleibt das Testfeld gelb, ist keine Glukose vorhanden, der Nachweis ist negativ. Verfärbt sich das Testfeld grün, konnte Glukose nachgewiesen werden und der Nachweis ist positiv.

Weitere Hinweise zur Interpretation finden Sie unter ▸ Abschn. 10.4.

10.3.3.4 Wöhlk-Probe zum Nachweis von Laktose

Die Wöhlk-Probe dient dem direkten Nachweis von Laktose (◘ Abb. 10.9) (Ruppersberg et al., 2019). Ihre Durchführung kann die vorangegangenen indirekten Nachweise ergänzen.



◘ **Abb. 10.9** **Durchführung der Wöhlk-Probe.** Zur Durchführung der Wöhlk-Probe werden frische Reagenzgläser, ein 60 °C warmes Wasserbad, 10 %-ige Ammoniak-Lösung und 1 M Kaliumhydroxid-Lösung benötigt. In 3 mL der Testlösung werden zunächst 2 Tropfen Ammoniak-Lösung und anschließend 3 Tropfen Kaliumhydroxid-Lösung zugegeben. Die Proben werden für 15–30 min im Wasserbad inkubiert. Ist Laktose vorhanden, färbt sich die Lösung lachsrosa

Wichtig
Bitte arbeiten Sie bei der Durchführung der Wöhlk-Probe im Abzug.

- Ein Wasserbad mit einer Temperatur von 60 °C vorbereiten.
- Das Gefäß sollte so groß sein, dass alle Proben hineinpassen.
- Pro Probe wird ein neues RG vorbereitet und eindeutig beschriftet.
- Im Anschluss werden 3 mL der Probe (Reaktionslösung des zu testenden Ansatzes) in das neue RG überführt.
- Zu jeder Probe werden zunächst 2 Tropfen 10 %-ige Ammoniak-Lösung und anschließend 3 Tropfen 1 molare Kaliumhydroxid-Lösung hinzugegeben.
- Die Proben werden für 15 bis 30 min im Wasserbad inkubiert.
- Im Anschluss können die Ergebnisse notiert werden:
  Ist keine Verfärbung oder nur ein Gelbstich erkennbar, liegt keine Laktose vor und der Nachweis ist negativ. Verfärbt sich die Probe lachsrosa liegt Laktose in der Lösung vor, der Nachweis ist positiv.

10.4 Ergebnisinterpretation

Die Ergebnisinterpretation ist abhängig von Ihrer Fragestellung mit entsprechender Planung und Durchführung. Durch die erwähnten Adaptionsmöglichkeiten kann es sein, dass nicht alle Interpretationsmöglichkeiten auf Ihre experimentelle Planung zutreffen. Entsprechend werden hier allgemeine Ergebnisse präsentiert.

Folgende Beobachtungen sind bei der Versuchsdurchführung möglich:

- Alginat-Kügelchen schwimmen: direkte Beobachtung der Eigenschaften von Alginat. Die Permeabilität erlaubt dem umgebenden Wasser einzudringen und führt zum Quellen der Kügelchen.
- Gasbläschen sind an der Oberfläche der Alginat-Kügelchen zu beobachten: Sichtbarkeit der Gasentwicklung direkt an den Kügelchen, die Hefe enthalten, v. a. bei Anwesenheit von Glukose, aber ggf. reichen Zusatzstoffe in der Trockenhefe bzw. frischen Hefe ebenfalls für diese Beobachtung.

Die zu erwartenden Ergebnisse für die in ◘ Abb. 10.5 empfohlenen Ansätze sind in ◘ Tab. 10.1 zusammengestellt.

Im folgenden finden Sie Anmerkungen in Bezug auf die in ◘ Tab. 10.1 mit Sternchen versehenen Ergebnisse.

1. Kohlendioxid: Kohlendioxid entsteht als Abfallprodukt des Stoffwechsels von *S. cerevisiae*. Hefen können allerdings auch andere Energiequellen wie beispielsweise Proteine nutzen (Annemüller et al., 2008; da Cruz et al., 2003). Entsprechend entfärbt sich Phenolphthalein durch Kohlendioxid-Entstehung, obwohl Milch keine Glukose enthält, gelb. (Nachweise: negativer GOD-Test bei Milch, keine Kohlendioxid-Entstehung bei Hefe in Laktose-Lösung).
2. GOD-Test: Die hier verwendeten GOD-Teststreifen dienen dem Glukose-Nachweis im Urin, entsprechend liegt die Farbskala der quantitativen Konzentrationsbestimmung deutlich unterhalb der hier verwendeten bzw. generierten Glukosekonzentrationen und kann somit lediglich als qualitativer Nach-

Tab. 10.1 Erwartete und häufig beobachtete Ergebnisse der Nachweisreaktionen für die empfohlenen Ansätze (► Abb. 10.3). Phenolphthalein: positiv (+) farblos, negativ (-) violett dargestellt. **GOD-Teststreifen:** negativ (-) gelb, positiv (+) grün dargestellt. **Wöhlk-Probe:** Negativ (-) gelb, positiv (+) lachsrosa dargestellt. Ergebnisse, die mit einem Sternchen markiert sind, werden in den Anmerkungen behandelt. L^- steht für laktosefrei

Reaktionslösung	Alginat-Kügelchen	Nachweise		
		Phenolphthalein	GOD-Test	Wöhlk-Probe
Glukose	Hefe	+	*2+	–
Laktose	Hefe	–	–	+
Milch	Hefe	*1+	–	+
Milch	Laktase	–	+	*3–
Milch	Hefe-Laktase	+	+	–
L-Milch	Hefe	*4+	*5+	–
L-Milch	Laktase	–	*5+	–
L-Milch	Hefe-Laktase	*4+	*5+	–

weis dienen. Daher kann der GOD-Test einer mit Hefe-Alginat-Kügelchen inkubierten Glukose-Lösung immer noch positiv sein, auch wenn Hefe Glukose abbaut. Der Abbau ist in dem Fall aufgrund einer zu geringen **Inkubationszeit** nicht vollständig verlaufen.

3. Wöhlk-Probe: Auch hier hat die Inkubationszeit wesentlichen Einfluss auf die Ergebnisse der Nachweismethode, da sie bestimmt, wie lange die Umsetzung der Edukte erfolgt. Entsprechend können auch hier die erwarteten Ergebnisse von den tatsächlichen Beobachtungen im Versuchsablauf abweichen. Bei der Wöhlk-Probe könnte es entsprechend bei unvollständigem Abbau von Laktose zu einer helleren lachsrosa Färbung kommen.
4. In laktosefreier Milch (L^-) ist die Laktose bereits in Glukose und Galaktose gespalten und kann somit direkt von Hefe weiter verstoffwechselt werden.
5. Da bereits Glukose in laktosefreier Milch vorliegt und der GOD-Teststreifen sehr empfindlich ist, hängt das positive Ergebnis von der Inkubationszeit ab. Wenn die Hefe genug Zeit bekommt, kann es sein, dass auch ein negativer GOD-Test auftritt.

10.5 Checkliste

Im Folgenden finden Sie eine Auflistung aller notwendiger Reagenzien und Lösungen sowie Hinweise zu deren Herstellung. Für einen reibungsfreien Ablauf der praktischen Einheit in Ihrem Unterricht können Sie mehrere Vorbereitungen treffen. Genauere Informationen dazu entnehmen Sie bitte ► Abschn. 10.2. Die Angaben und Empfehlungen in diesem Kapitel werden häufig in Gruppen angegeben. Dabei entspricht eine Gruppe zwei Schüler*innen. Sie sind darauf ausgerichtet, den Versuch pro Person einmal vollständig durchzuführen. Sie können individuell entscheiden, mit welcher Gruppenstärke Sie die Versuche durchführen wollen. Ob-

wohl alle Schüler*innen mit ihrer eigenen Probe arbeiten, empfiehlt es sich, mindestens Zweiergruppen einzuteilen. Dadurch kann an Materialien und Geräten gespart werden und eventuell verringern Teams die Fehlerrate.

10.5.1 Reagenzien

- Natrium-Alginat (erhältlich in der Apotheke)
- Calciumchlorid
- Laktase-Tabletten (erhältlich im Super- oder Drogeriemarkt)
- Bäckerhefe (erhältlich im Super- oder Drogeriemarkt)
- Laktose
- Glukose
- Milch (laktosehaltig und laktosefrei)
- Calciumhydroxid
- Phenolphthalein (0,1 %-ige Lösung, WINLAB)
- MEDI TEST Glucose Teststreifen (Macherey-Nagel; bei Amazon erhältlich)
- Ammoniak-Lösung (10 %-Lösung), nur für Wöhlk-Probe
- Kaliumhydroxid-Lösung (1 M), nur für Wöhlk-Probe

10.5.1.1 Besonderheiten bei der Verwendung von Laktase-Tabletten

In diesen Versuchen wird mit Laktase aus Laktase-Tabletten gearbeitet. Diese sind in einer Reihe von Super- und Drogeriemärkten in verschiedenen Ausführungen erhältlich. Die Laktase-Tabletten unterscheiden sich zum einen in der Enzymkonzentration, zum anderen in ihrer Zusammensetzung. Die Enzymkonzentration wird in FCC-Einheiten (*food chemical codex*) angegeben; 1 FCC entspricht etwa 14,3 mg Laktase. Diese Menge wird benötigt, um etwa 1 g Laktose abzubauen. Dies bedingt die benötigte Inkubationszeit der Experimentalansätze (► Abschn. 10.3).

Wichtig

Vergewissern Sie sich, dass keine Zusatzstoffe (z. B. Saccharide, …) in den Laktase-Tabletten enthalten sind, die Ihre eigentliche Nachweisreaktion von Glukose falsch-positiv beeinflussen. Ein Nachteil sind die Tablettenfüllstoffe, da diese Einfluss auf die Reaktion selbst oder die Nachweisreaktionen haben könnten.

Tipp

Die Vorteile von Laktase-Tabletten gegenüber reiner industrieller Laktase liegen vor allem in ihrem günstigen Preis und der guten Lagerstabilität.

10.5.1.2 Der Stoffwechsel der Bäckerhefe *S. cerevisiae*

Bäckerhefe kann das Disaccharid Laktose nicht spalten (Schopfer, 1989, S. 4). Bei der Co-Immobilisierung von Hefe mit Laktase übernimmt das Enzym Laktase extrazellulär die Spaltung vorliegender Laktose und stellt somit den Hefezellen Glukose für ihren Stoffwechsel zur Verfügung. Beim anaeroben Abbau von Glu-

kose durch die Glykolyse und alkoholische Gärung unter Beteiligung der Hefeenzyme entsteht gasförmiges Kohlendioxid, das man dem indirekten Nachweis zuführt (► Abschn. 10.3.3.2). Diesen Prozess macht man sich auch im Alltag zu Nutze, um beim Backen den Teig aufgehen zu lassen.

10.5.2 Vorbereitung der Lösungen

Wichtig
Denken Sie daran, am Tag vor den Versuchen die Alginat-Lösung vorzubereiten, da Natrium-Alginat sehr lange braucht, um sich vollständig zu lösen.

Tipp

Die Vorbereitung der anderen Lösungen kann je nach individueller Planung ebenfalls durch Sie im Vorfeld geschehen oder als Arbeitsaufträge an die Schüler*innen weitergegeben werden.

Alle Lösungen können entsprechend der benötigten Menge skaliert werden.

1. Natrium-Alginat-Lösung
   - Konzentration: 0,015 gmL^{-1}
   - 1,5 g Natrium-Alginat in 100 mL Wasser lösen

   Über Nacht rühren lassen für vollständiges Lösen
2. Calciumchlorid-Lösung
   - Konzentration: 2 % ≙ 2,22 gL^{-1}
   - 0,22 g Calciumchlorid in 100 mL Wasser lösen
3. Calciumhydroxid-Lösung (Kalkwasser)
   - Konzentration: gesättigt
   - So viel Calciumhydroxid in Wasser lösen, bis sich ein Niederschlag bildet.
   - Dieser zeigt die Sättigung an. Lösung vom Rückstand abdekantieren und möglichst luftdicht verschließen. Idealerweise frisch zubereiten.
4. Laktose-Lösung
   - Konzentration: 8 % ≙ 8,65 gL^{-1}
   - 0,87 g Laktose in 100 mL Wasser lösen
5. Glukose-Lösung
   - Konzentration: 8 % ≙ 14,41 gL^{-1}
   - 1,44 g Glukose in 100 mL Wasser lösen
6. Hefe-Suspension
   - 5 g Trockenhefe in 50 mL Wasser suspendieren
7. Laktase-Lösung
   - 1 Tablette im Mörser zerkleinern und in 10 mL Wasser lösen

Wichtig
Bei Punkt 6 und 7 bitte vorsichtig umrühren um Blasenbildung zu vermeiden.

10.6 Fachwissenschaftlicher Hintergrund

10.6.1 Herstellung laktosefreier Milchprodukte

In vielen traditionellen Verarbeitungsprozessen der Milch wird Laktose abgebaut: ca. 99 % bei der Butterherstellung, ca. 90 % bei der Käseherstellung und bis zu 30 % bei der Milchsäurefermentation flüssiger Milchprodukte wie Joghurt und Kefir (Harju et al., 2012). Laktosefreie Milchprodukte wurden erstmals 1950 auf den Markt gebracht und ab 1970 auch enzymatisch prozessierte Milchprodukte, da das Enzym ***β*-Galaktosidase** zu diesem Zeitpunkt kommerziell zur Verfügung stand (Katrolia et al., 2019, S. 410–423). Das Enzym *β*-Galaktosidase kommt auch in vielen Organismen vor: In Tieren (alle Säugetiere), Pflanzen (u. a. Mandeln, Pfirsiche, Äpfel) und Mikroorganismen (Bakterien, Pilze und Hefen) (Chen et al., 2009; Katrolia et al., 2019, S. 410–423). Im Wesentlichen unterscheiden sich die pH-Optima der Laktase je nach Ursprungsorganismus. Da der natürliche pH-Wert von Milch in einem Bereich von 6,5 bis 6,6 liegt, werden *β*-Galaktosidasen aus Bakterien und Hefen bevorzugt für industrielle Prozesse verwendet (Chen et al., 2009).

Heutzutage ist Laktase eines der wichtigsten Enzyme der Lebensmittelverarbeitung (Harju et al., 2012). Die hydrolytische Spaltung von Laktose in Milchprodukten ist eine der möglichen Herangehensweisen, der Laktoseunverträglichkeit zu begegnen (Vasiljevic & Jelen, 2001). In der Regel wird eine Hydrolyse der Laktose von 80–90 % verfolgt, da das Hydrolyseprodukt Glukose zu einer Geschmacksveränderung des Milchprodukts führt (Harju et al., 2012). Laktose ist nur etwa halb so süß wie Glukose (Lomer et al., 2008). Um dieser Beschaffenheit entgegenzuwirken, wird häufig Speisesalz hinzugegeben (Harju et al., 2012). Allerdings stellt die Hydrolyse-Rate die Lebensmittelüberprüfung vor neue Herausforderungen (Mangan et al., 2019): Es gibt keine allgemeingültige Definition, ab welchem Schwellenwert Milchprodukte als laktosefrei gelten. Viele Länder haben sich auf 10–100 mg Laktose pro 100 g Produkt festgelegt (Mangan et al., 2019).

10.6.2 Verwendung von Enzymen in industriellen Prozessen

Als Biokatalysatoren erhöhen Enzyme die Rate chemischer Reaktionen, ohne selbst verändert bzw. verbraucht zu werden. Dabei verändern sie das Gleichgewicht zwischen Edukten und Produkten nicht (Robinson, 2015). Die hohe Effizienz und Selektivität enzymatischer Prozesse ist erstrebenswert für viele industrielle Prozesse (Ding et al., 2015). Entsprechend spielen sie eine Schlüsselrolle in vielen biotechnologischen Prozessen der Energie-, Lebensmittel- und chemischen Industrie, beispielsweise in der Medikamentenproduktion, der medizinischen Diagnostik oder der Herstellung von Biogas (Ding et al., 2015; Velasco-Lozano et al., 2016).

Für eine industrielle Verwendung müssen Enzyme einfach in der Handhabung, stabil gegenüber den Prozessbedingungen und wiederverwendbar sein (Velasco-Lozano et al., 2016). Allerdings sind Enzyme häufig sehr sensitiv und tendieren zur Inhibition durch zu hohe Produktkonzentrationen, dadurch wird ihre Verwendung

technisch herausfordernd, v. a. in Bezug auf ihre Rückgewinnung und Wiederverwendung (Mohamad et al., 2015). Insgesamt ist der industrielle Erfolg von Enzymen nicht so hoch, wie man erwarten könnte (Rueda et al., 2016). Das liegt vor allem an ihrem biologischen Ursprung: Enzyme sind durch jahrelangen Evolutionsdruck geprägt und erfüllen in der Regel nur das Minimum, das für die Funktionalität der Zelle benötigt wird (Mohamad et al., 2015; Rueda et al., 2016). Der Bereich der Biotechnologie wächst stark und neben der Reduktion von Produktionskosten stehen auch Verbesserungen in der Produktqualität im Vordergrund (Ansari et al., 2018). Es gibt viele Versuche, die Nutzung von Enzymen für biotechnologische Prozesse zu begünstigen. Die Immobilisierung ist eine von vielen Methoden, um Kosten des Enzyms und des enzymatisch hergestellten Produkts zu reduzieren (Damin et al., 2021; Harju et al., 2012; Velasco-Lozano et al., 2016). Immobilisierung bedeutet die Limitierung des Enzyms auf einen definierten Bereich, wobei es seine katalytische Aktivität behält und für die Wiederverwendung nutzbar gemacht wird (Velasco-Lozano et al., 2016). Weitere Methoden sind beispielsweise Separationsprozesse wie die Kristallisation oder Ultrafiltration (Harju et al., 2012).

Die andauernde Optimierung der Immobilisierung von β-Galaktosidasen steht seit einigen Jahren im Fokus der Forschung (Chen et al., 2009). Es handelt sich um einen innovativen, schnell wachsenden Markt (Ansari et al., 2018). Aufgrund des hohen Konkurrenzdrucks sind die meisten Herstellungsprozesse patentiert. Neben der dadurch gesteigerten enzymatischen Aktivität ist auch eine Verwendbarkeit im großtechnischen Maßstab wichtig (Ansari et al., 2018). Dabei rücken vor allem thermophile Ursprungsorganismen in den Mittelpunkt, da Enzyme aus diesen gegenüber härteren Prozessbedingungen stabiler sind (Chen et al., 2009; Vasiljevic & Jelen, 2001). Sie führen zu einer gesteigerten Reaktionsgeschwindigkeit, reduzieren das Risiko mikrobieller Kontamination und haben eine längere Halbwertszeit (Chen et al., 2009). Dabei achtet die Lebensmittelindustrie vor allem darauf, dass die verwendeten Quellen als sicher gelten(Chen et al., 2009). Eine allgemeingültige Klassifikation findet dabei durch den GRAS-Status statt, der die Unbedenklichkeit eines Stoffes als Lebensmittelzusatzstoff verifiziert (Vasiljevic & Jelen, 2001).

10.6.3 Techniken zur Enzymimmobilisierung

Die Immobilisierung (Borzouee et al., 2021) kann die Reaktivität der Enzyme verändern, u. a. durch veränderte Konformation oder einen veränderten Aggregationszustand (Velasco-Lozano et al., 2016). Trotzdem kann die Immobilisierung neben der Reduktion von Produktionskosten viele weitere Vorteile bieten, da sie die Enzyme unlöslich macht: u. a. eine Vereinfachung der Handhabung, eine gesteigerte Kontrolle des Reaktionsprozesses, die Steigerung der Enzymstabilität gegenüber Lagerung und Durchführungscharakteristiken (pH-Wert, Lösungsmittel, Substratkonzentrationen, Temperatur, inhibitorische Effekte etc.) sowie die Verringerung bzw. Vermeidung der Proteinkontamination im Produkt (Basso & Serban, 2020, S. 27–36). Außerdem kann eine Immobilisierung die Regio-, Enantio- und Chemoselektivität der Enzyme vorteilhaft beeinflussen (Velasco-Lozano et al., 2016).

Die drei häufigsten Techniken der Immobilisierung sind Adsorption, Einschluss und kovalente Bindung. Bei allen drei Arten der Immobilisierung muss beachtet werden, dass das Enzym seine chemischen und physikalischen Eigenschaften während der Immobilisierung verändert (Eş et al., 2015; Mohamad et al., 2015).

Den größten Einfluss auf diese Veränderung der Enzymeigenschaften hat die verwendete Matrix (Mohamad et al., 2015). Die Interaktion des Matrixmaterials mit dem Enzym muss, in Abhängigkeit des verwendeten Enzyms, verschiedene kinetische, mechanische und biochemische Eigenschaften haben (Mohamad et al., 2015). In der Regel gelten folgende Eigenschaften als vorteilhaft bei der Auswahl des Matrixmaterials: Hydrophilie, Inaktivität gegenüber enzymatischem Abbau, **Biokompatibilität**, Resistenz gegen mikrobiellen Befall, geringe Kosten. Die geläufigsten Materialien sind Stärke, Kollagen, Ionenaustausch-Harze, Silikon, Keramik, Agarose und eine Reihe von Polymeren, zu denen auch Alginat gehört (Mohamad et al., 2015). Die Immobilisierung an Makro- oder Mikrooberflächen dient in der Regel der nicht-nativen Anwendung von Enzymen, z. B. in Biosensoren oder Bioreaktoren (Ding et al., 2015). Allerdings limitiert sie die Leistungsfähigkeit aufgrund der Verzerrung nativer Strukturen, sterischer Hinderung und verlangsamter Diffusionsraten (Ding et al., 2015). Die drei häufigsten Techniken sind in ◘ Abb. 10.10 schematisch dargestellt (Eş et al., 2015; Mohamad et al., 2015).

Die physikalische Adsorption von Enzymen ist die einfachste Art der reversiblen Immobilisierung. Die Adsorption wird durch schwache unspezifische Kräfte wie z. B. Van-der-Waals Kräfte, hydrophobe Interaktionen oder Wasserstoffbrücken hervorgerufen (Eş et al., 2015). Ein großer Vorteil ist, dass die Enzyme unter milden Bedingungen wieder von der Matrix gelöst werden und durch neue Enzyme ersetzt werden können. Dies wird notwendig, sobald verwendete Enzyme ihre Funktionalität verlieren (Mohamad et al., 2015). Entsprechend ist diese Methode vor allem aus ökonomischer Sicht sinnvoll, da die Kosten des Matrixmaterials einen primären Faktor der Gesamtkosten von immobilisierten Enzymen darstellen (Mohamad et al., 2015).

Der Einschluss ist eine irreversible Methode der Immobilisierung. Polymere Membranen erlauben den Austausch von Edukten und Produkten, während das Enzym in der Matrix verbleibt (Eş et al., 2015). Einige Vorteile des Einschlusses sind, dass die mechanische Stabilität erhöht werden kann und das Enzym nicht chemisch mit der Matrix interagiert, wodurch die Denaturierung oder Entartung verhindert wird (Mohamad et al., 2015). Außerdem bietet diese Methode durch Modifikation der Matrix die Möglichkeit, eine ideale Mikroumgebung für das Enzym zu schaffen, z. B. pH-Wert oder Polarität (Eş et al., 2015; Mohamad et al., 2015). Die einfachste und häufigste Anwendung des Einschlusses liegt in der Verwendung polyanionischer bzw. -kationischer Polymere, die unter Zugabe von Gegenionen geliert werden (Mohamad et al., 2015). Neben Alginat können dafür auch Gelatine, Polyacrylamid und andere Polymere verwendet werden. Alginat wird am häufigsten verwendet, da es unter milden Bedingungen geliert und ungiftig ist (Eş et al., 2015; Mohamad et al., 2015). Trotzdem ist der Einschluss als

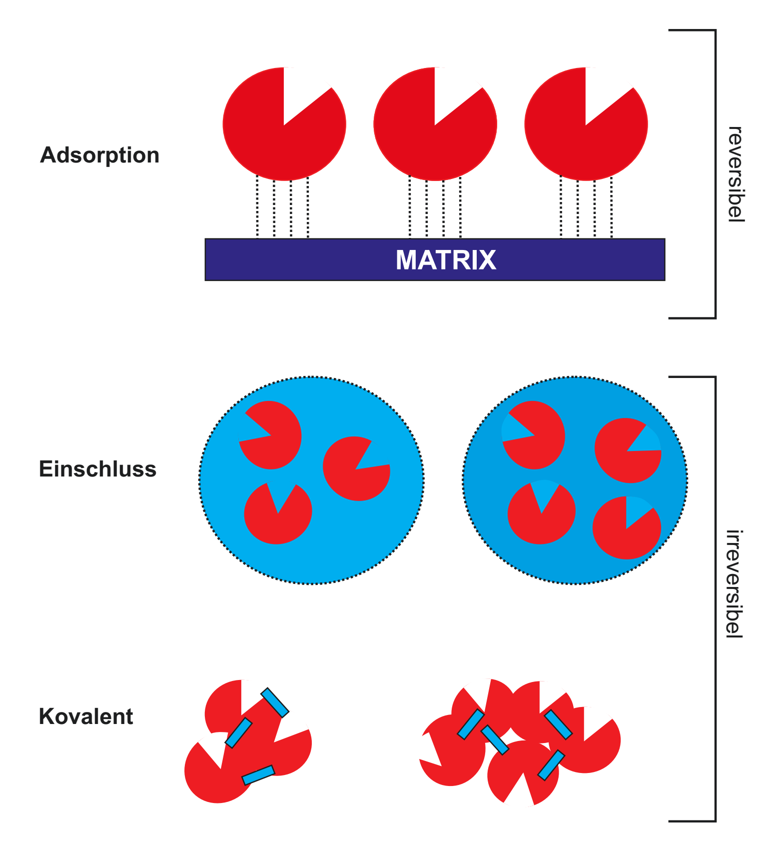


Abb. 10.10 **Schematische Darstellung der drei häufigsten Arten der Enzymimmobilisierung.** Physikalische Adsorption über schwache Wechselwirkungen, wie Van-der-Waals Kräfte oder Wasserstoffbrücken; Einschluss des Enzyms in eine poröse Matrix, die eine Diffusion von Substraten, aber nicht des Enzyms erlaubt; und kovalente Bindung der Enzyme untereinander. Enzyme sind durch rote Formen und die verwendete Immobilisierungseinheit durch blaue Formen dargestellt

Immobilisierungsmethode teilweise limitiert, v. a. durch die Porengröße, die beeinflusst, bis zu welcher Größe Substrate ungehindert diffundieren können (Mohamad et al., 2015). Außerdem kann es zur Inaktivierung des Enzyms kommen und teilweise sind die Matrices in ihrer Ladekapazität eingeschränkt. Des Weiteren kann es zu einem Abtrag des Materials während der Nutzung kommen (Mohamad et al., 2015).

Entsprechend wird die dritte Alternative der kovalenten Bindung bzw. Quervernetzung für die irreversible Immobilisierung am häufigsten verwendet (Eş et al., 2015). In der Regel werden die Enzyme über Enzymreste von Lysin, Cystein, Aspartat oder Glutamat verknüpft (Mohamad et al., 2015). Die Aktivität des Enzyms ist im Anschluss von mehreren Faktoren abhängig: Größe, Form und Zusammensetzung des Verbindungsmaterials sowie Art der Bindung (Eş et al., 2015). Allerdings bietet die kovalente Bindung auch die Möglichkeit zur Immobilisierung ohne die Verwendung einer Trägermatrix (Velasco-Lozano et al., 2016).

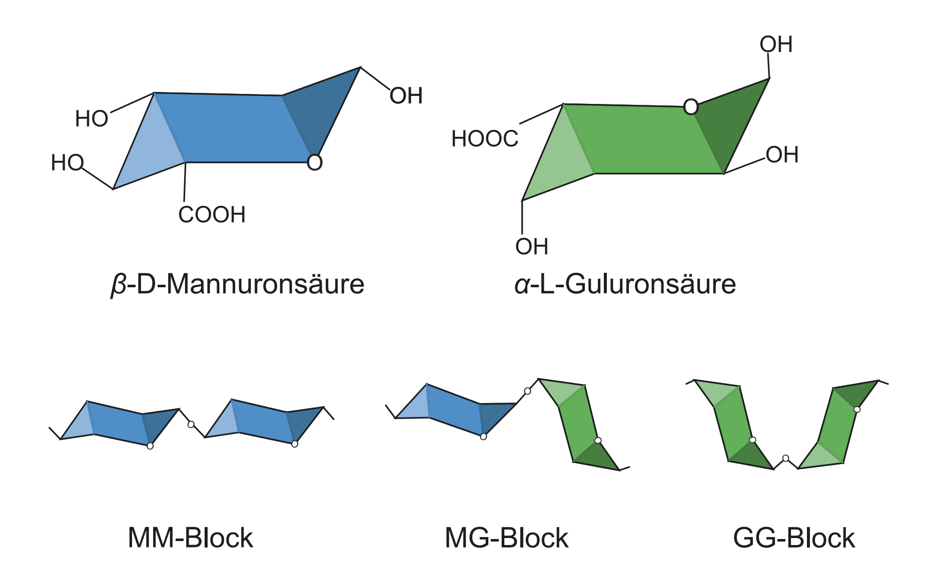
Es konnte gezeigt werden, dass durch die Integration von Nanopartikeln wie Quantum Dots oder Carbon-Nanotubes die Enzymaktivität während der Immobilisierung verbessert werden kann (Ding et al., 2015). Dadurch können zum einen Kosten des Trägermaterials eingespart und zum anderen die Temperaturstabilität erheblich erhöht werden (Velasco-Lozano et al., 2016). Allerdings sind diese Verbindungen sehr sensibel gegenüber pH-Wert-Schwankungen sowie mechanischer Krafteinwirkung (Velasco-Lozano et al., 2016).

10.6.4 Alginat – von der molekularen Küche bis hin zur großindustriellen Anwendung

Als Alginat werden die Salze der Alginsäure bezeichnet. Bei Alginsäure handelt es sich um ein 1,4-glykosidisch verknüpftes lineares Polysaccharid, welches sich aus den beiden Zuckersäuren *α*-*L*-Guluronsäure und *β*-*D*-Mannuronsäure zusammensetzt (◘ Abb. 10.11). Seine Struktur ist nicht alternierend, sondern es kann zu Bereichen reiner Guluronsäure (GG-Blöcke) oder Mannuronsäure (MM-Blöcke) kommen (Zimmermann et al., 2005). Alginat wird vor allem von Braunalgen gebildet und dient dort als interzelluläres Strukturelement der Zellwände, wodurch sowohl die Flexibilität als auch die Festigkeit der Algen zustande kommt. Industriell fällt Alginsäure aus Braunalgen meist als Nebenprodukt der Iod-Gewinnung an.

Allerdings extrahiert die Lebensmittel-, Pharma- und Kosmetikindustrie Alginat auch direkt aus Braunalgen. Dabei werden jährlich 30.000 Tonnen Alginat gewonnen, diese machen weniger als 10 % des zusätzlich biosynthetisch hergestellten Alginats aus (Pawar & Edgar, 2012). Mit einwertigen Kationen ist Alginat wasserlöslich, doch sobald die Carboxy-Gruppen über mehrwertige Kationen quervernetzt werden, geliert es. Dabei spielen die GG- und MG-Blöcke eine besondere Rolle, da zwischen ihnen das mehrwertige Kation wie in einem Eierkarton eingelagert wird (Zimmermann et al., 2005). Im Gegensatz zu GG-Blöcken sind die Quervernetzungen der MG-Blöcke schwächer. Die Affinität von Alginat zu verschiedenen bivalenten Kationen unterscheidet sich und nimmt in dieser Reihenfolge ab: Pb > Cu > Cd > Ba > Sr > Ca > Co, Ni, > Zn > Mn. Trotzdem wird Calcium industriell am häufigsten verwendet (Pawar & Edgar, 2012). ► Abb. 10.11 zeigt die verschiedenen Möglichkeiten zur Quervernetzung von Alginat mit Ca^{2+}-Ionen.

Es gibt zwei Methoden zur Gelierung von Alginat mit Calcium. Erstens Diffusion, dabei wird die Calcium-Lösung extern hinzugegeben und führt zu einem Konzentrationsgradienten von Calcium im Alginatgel. Zweitens die innere Reaktion, bei der eine unlösliche Calcium-Quelle in der Alginat-Lösung enthalten ist und durch eine kontrollierte Veränderung der Umgebungsbedingung (z. B. über den pH-Wert) frei wird. Das führt zu einer konstanten Calciumkonzentration innerhalb des Alginat-Gels. In diesem Versuchsteil wird mit der Diffusionsmethode gearbeitet.



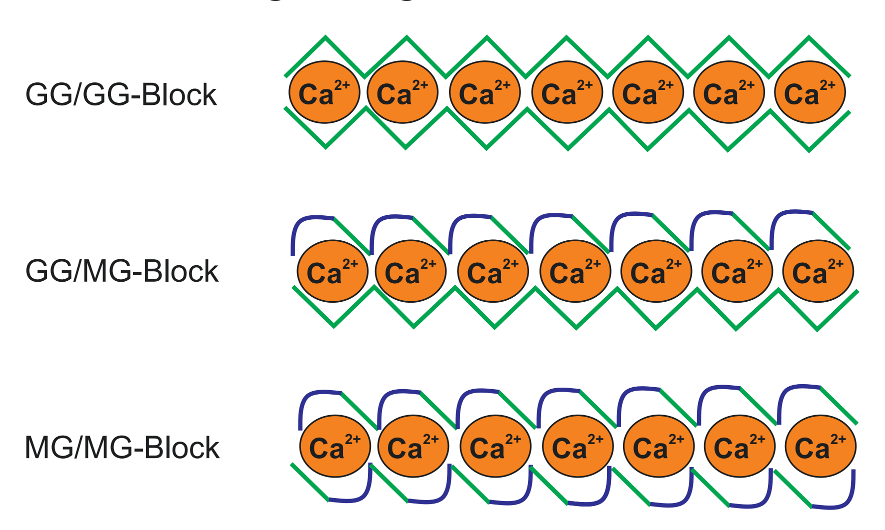


Abb. 10.11 Alginat Struktur und deren schematische Darstellung der Quervernetzung mit zweiwertigen Kationen. Alginsäure besteht aus den beiden Säurezuckern *β-D*-Mannuronsäure und *α-L*-Guluronsäure, welche 1,4-glykosidisch miteinander verknüpft sind. Dabei können folgende Polysaccharid-Fragmente entstehen: MM-Böcke, MG-Blöcke und GG-Blöcke. Mit mehrwertigen Kationen können die Carboxy-Gruppen interagieren, wodurch Quervernetzungen entstehen. Dies ist nur mit GG- und MG-Blöcken möglich, da bei ihnen das Kation, wie in einem Eierkarton eingebettet werden kann. Über einen Kationenaustausch kann somit die Gelierung des Alginats erfolgen

Als natürliches Polysaccharid spielt Alginat eine große Rolle in der Biomedizin. Beispiele dafür sind die Verwendung als Wundverband, die Behandlung chronischer Entzündungen bei Zystischer Fibrose oder die Verkapselung lebender Zellen oder Medikamente (Boateng et al., 2008; Pawar & Edgar, 2012; Ramsey & Wozniak, 2005). Letzteres gehört zum Bioengineering und stellt hohe Ansprüche an das verwendete Material, nämlich die Bereitstellung einer physikalischen und chemischen Umgebung, die von biologischen Objekten (z. B. lebenden Zellen) bevorzugt wird. Die Verwendung von Alginat hat diesbezüglich viele Vorteile. Es ist hydrophob, biokompatibel und nicht immunogen (Pawar & Edgar, 2012). Wird die Quervernetzung von Alginat durch Ionen hervorgerufen, spricht man von physikalischen Gelen, welche bereits ein breites Anwendungsgebiet haben (u. A. Lebensmitteladditiv, E400) (Draget et al., 2005, S. 1–30).

Darüber hinaus gibt es Ansätze, Alginat kovalent zu vernetzen und es dadurch für weitere Anwendungsfelder verfügbar zu machen, beispielsweise für die Ionen-Austauschchromatographie, superschwellende Materialien, Pervaporation (z. B. Dehydrierung von Wasser-Alkohol-Gemischen), Trennung optischer Isomere (Grasselli et al., 1993; Hoon Kim et al., 2003; Moe et al., 1993).

10.7 Didaktische Überlegungen für Ihren Unterricht

10.7.1 Lehrplanbezug und Kompetenzförderung

Auch wenn Alginat-Kügelchen hier als Reaktionsraum in den Kontext der Proteinchemie und Enzymkinetik gestellt werden, haben diese im Unterricht ein multiperspektivisches und fächerübergreifendes Potenzial, sodass sich das hier vorgestellte Modul für den Einsatz sowohl in unterschiedlichen Jahrgangsstufen als auch in unterschiedlichen Unterrichtsfächern, z. B. der Chemie eignet.

Arbeiten mit Basiskonzepten: Anhand der Alginat-Kügelchen lässt sich das Konzept der Kompartimentierung demonstrieren und das Standardbeispiel der Biomembran erweitern. In diesem Zusammenhang kann die Notwendigkeit der Immobilisierung von Enzymen in industriellen Prozessen aufgegriffen und vertieft werden (► Abschn. 10.6.2).

Chemische Bindungen und daraus resultierende Eigenschaften. Alginat gehört zu den Kohlenhydrat-Polymeren und bietet dadurch eine gute Alternative zu den Standardbeispielen Stärke und Zellulose. Mit Blick auf die Kohlenhydratchemie bietet sich daher die horizontale Vernetzung über das Struktur-Eigenschafts-Konzept am Beispiel der Polymere Stärke, Alginat und Agarose an. Im direkten Vergleich von Alginat und Agarose können die Eigenschaften der chemischen Bindungen sehr anschaulich gezeigt werden. Sowohl bei Agarose, als auch bei Alginat handelt es sich um physikalische Gele, die allerdings auf verschiedenen Bindungstypen basieren. Alginat geliert basierend auf ionischen Bindungen zwischen den Polymerketten und Metallionen, während Agarose helicale Strukturen durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen -NH und -OH Gruppen bildet. Besonders

Wasserstoffbrücken können hier als Typ chemischer Bindungen aufgegriffen werden, da Schüler*innen bei diesen häufig Verständnisschwierigkeiten haben.[2]

Diese Struktur-Eigenschafts-Beziehungen eignen sich hervorragend für Projekte im Rahmen des Forschenden Lernens, da diese über geeignete Fragestellungen häufig mit simplen Mitteln untersucht werden und darüber hinaus über den Ebenenwechsel (mikroskopisch – makroskopisch) direkt erfahrbar gemacht werden können, wodurch im Idealfall ein *Conceptual Change* erreicht wird (► Abschn. 9.6.3). Alginat wird als für uns essbares Kohlenhydrat-Polymer für den Einschluss des Enzyms genutzt. Durch den Vergleich von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen können weitere Forschungsfragen aufgeworfen werden:

- Welche Kohlenhydrat-Polymere sind essbar und können vom Menschen verwertet werden?
- Welche Eigenschaften haben Kohlenhydrat-Polymere, die nicht verdaut werden können?
- Warum ist es in Laboren häufig wichtig, dass Polymere nicht oder nur schlecht biologisch, z. B. durch Mikroorganismen, abgebaut werden können?

Die letzte Frage knüpft an die Herstellung laktosefreier Milch in diesem Kapitel unmittelbar an: Warum ist es für das hier durchgeführte Experiment wichtig, dass weder Hefe noch Laktase Alginat abbauen können? Diese Fragen können gemeinsam beantwortet und auf die daraus folgenden Spezies-Unterschiede (Mensch vs. Hefe) eingegangen werden. Welche Folgen hätte es für das Experiment, wenn Hefe oder Laktase das Alginat abbauen könnten?

Gesundheitliche Perspektive. Die Bezugnahme auf den Themenbereich Gesundheit findet sich z. B. mit dem Thema gesunde Ernährung nahezu in allen Rahmenlehrplänen und bietet die Möglichkeit, an das Interesse und die alltäglichen Erfahrungen von Schüler*innen anzuknüpfen. Beginnend bei der Laktoseintoleranz (► Kap. 9) sowie den hier vorgestellten Zusammenhängen können Sie den thematischen Aspekt „Zucker“ erweitern und Laktase-Nicht-Persistenz mit Diabetes in Bezug auf die industrielle Herstellung von Laktase und Insulin vergleichen sowie weitere Gemeinsamkeiten und Unterschiede herausarbeiten. Laktose bietet in dem Kontext auch ein gutes Modellbeispiel für weitere Zucker, die verschiedenen Lebensmitteln zugesetzt werden. Dieser Aspekt eröffnet die Diskussion über modernes Ernährungsverhalten anhand von Zusatzstoffen in (verarbeiteten) Lebensmitteln.

Ökonomische Perspektive. Alginat wird aus Braunalgen gewonnen und ist ein Abfallprodukt, dennoch kommt es in vielen industriellen Zweigen zum Einsatz, z. B. Kosmetik. Damit können Förderketten und Verwendungszwecke reflektiert werden, sowie der Recycling- oder „*zero waste*“-Charakter aus anderer Sicht betrachtet werden. An der Stelle lassen sich auch Berufsmöglichkeiten im MINT-Bereich aufzeigen, z. B. die Entwicklung von Anwendungen für „Abfallprodukte“.

In der folgenden Tabelle finden Sie beispielhaft am Bayerischen Lehrplan thematische Anknüpfungspunkte, die sich für das Forschende Lernen anbieten (◘ Tab. 10.2). Teilweise können diese abweichen, abhängig von Ihrem gewählten Schwerpunkt.

---

2 Online Auftritt des Bundesverbandes zur Förderung des MINT-Unterrichts: ► https://www.mnu.de/fachbereiche/didaktischer-pruefstand/411-wechselwirkungen-zwischen-teilchen.

Tab. 10.2 Kompetenzerwartungen und Inhalte am Beispiel ausgewählte Lern- bzw. Themenbereiche der Bildungspläne am Beispiel des bayerischen Lehrplans (S. f. S. u. B. ISB, 2022)

Themenbereich: Erkenntnisse gewinnen – kommunizieren – bewerten	Schüler*innen durchlaufen den Weg der wissenschaftlichen Erkenntnisgewinnung selbstständig mit einfachen Experimenten. *Allgemein gesprochen, können Schüler*innen in diesem Modul den gesamten Weg der Erkenntnisgewinnung (Fragestellung, Hypothese, Planen, Durchführen, Protokollieren, Auswerten, Darstellen und Präsentieren) durchlaufen.* Entwicklung und Eigenschaften von naturwissenschaftlichem Wissen, u. a. Interpretation, Nutzung unterschiedlicher Methoden. *Die Nutzung unterschiedlicher Nachweismethoden mit ihren individuellen Vor- und Nachteilen und inwiefern sie sich aus dem Experimentaldesign ergeben, kann hier gut angeknüpft werden. Konkret: Die GOD-Teststreifen sind quantitativ bei Urinproben, weil dort sehr geringe Mengen Glukose vorhanden ist, allerdings qualitativ in diesem Experiment, weil die Glukose-Konzentration weit oberhalb der vorgesehenen Skala liegt.*
Themenbereich: Mikroorganismen in der Biotechnologie	Schüler*innen erklären den biotechnologischen Nutzen von Mikroorganismen. *Bezug zur Lebensmittelindustrie: Fermentierte Milchprodukte (Joghurt, Kefir, Käse) enthalten weniger Laktose als der Ausgangsstoff Milch, da diese von den Milchsäurebakterien verstoffwechselt wird.* Schüler*innen lernen die Vielfalt heterotropher Stoffwechseltypen kennen. *Gegenüberstellung von Hefe und Milchsäurebakterien. Hefe kann Glukose, aber keine Laktose verstoffwechseln, Milchsäurebakterien können Laktose verstoffwechseln.* *Allgemein: Hefe als Modellorganismus.*
Themenbereich: Stoff- und Energieumwandlung beim Menschen	Schüler*innen vergleichen Inhaltstoffe von Nahrungsmitteln und ordnen diese den Makronährstoffen zu. *Milch enthält alle drei Makronährstoffgruppen. Fokus auf Kohlenhydrate (Disaccharid Laktose) oder mit Schwerpunkt auf den Stoffwechsel der Hefe auch variable Kohlenhydratquellen.* **Verdauung** Schüler*innen erläutern die allgemeine Wirkungsweise von Enzymen auf Stoff- und Teilchenebene. *Konkretes Beispiel der Laktase und ihrer Funktion im menschlichen Körper (Stillen und zusätzliche Nahrungsquelle durch Fermentieren mit Milchsäurebakterien).* Schüler*innen erläutern die Enzymausstattung des Menschen als Angepasstheit. *Rückbezug zu Food Wars I: Laktosetoleranz als junge Mutation in der evolutionären Entwicklung des Menschen.* **Gasaustausch** Schüler*innen erklären den Gasaustausch an Lunge und anderen Geweben mithilfe des Struktur-Funktions-Konzepts (Diffusion, Oberflächenvergrößerung). *Experimentelle Beobachtung: Kohlendioxid entsteht als Endprodukt bei mikrobiellen Stoffwechselwegen → Rückbezug zur Verdauung von Menschen mit Laktoseunverträglichkeit und den Symptomen (Blähungen), sowie Nachweismethoden (H_2-Atemtest). Dieser Zusammenhang verdeutlicht, dass auch in anderen Geweben Gasaustausch stattfindet, dieses Gas durch das Blut transportiert und durch die Lunge abgegeben wird.*

10

10.7.2 Forschendes Lernen am Beispiel der Herstellung laktosefreier Milchprodukte

10.7.2.1 Erkenntnisgewinnung in den Lebens- und Naturwissenschaften

Im Mittelpunkt dieses Kapitels steht neben dem konzeptuellen Wissenserwerb die experimentelle Erkenntnisgewinnung als fächerübergreifende Arbeitsweise in den Lebens- und Naturwissenschaften. Der Diskurs zu Maßnahmen während der Corona-Pandemie oder der Fokus auf den Klimawandel haben eindrücklich die Wichtigkeit einer naturwissenschaftlichen Grundbildung (*scientific literacy*: Bybee, 2004) gezeigt, um Schüler*innen auf der Basis von Wissen und Verständnis naturwissenschaftlicher Konzepte und Arbeitsweisen zu gesellschaftlicher Teilhabe zu befähigen. *Scientific literacy* ermöglicht es, Diskurse über Zukunftsthemen wie die Gesundheit oder Wege zur Sicherung des gesellschaftlichen Wohlstands unter Berücksichtigung ethischer Gesichtspunkte evidenzbasiert zu führen. Entsprechend erhalten diese Kompetenzen schon länger Eingang in die Bildungspläne der Bundesländer(z.B. ISB, 2022) und Bildungsstandards (KMK, 2020).

Neben naturwissenschaftlichen Fakten und Konzepten sollen Schüler*innen verstehen, auf welche Weise in den Naturwissenschaften Untersuchungsergebnisse gewonnen und wie sie interpretiert werden. Im *Rahmenkonzept wissenschaftsmethodischer Kompetenzen* (Mayer, 2007) werden daher drei Dimensionen unterschieden: (1) Praktische Arbeitstechniken (*practical work*), (2) wissenschaftliche Erkenntnismethoden (*scientific inquiry*) und (3) Charakteristika der Naturwissenschaften (*nature of science*: Flick & Lederman, 2004; Lederman et al., 2002). Experimentieren als exemplarische naturwissenschaftliche Arbeitsweise zielt damit im Biologieunterricht auf die Verknüpfung von Theorie und Praxis. Zur Theorie zählt hier sowohl Fachwissen (Fakten, Prinzipien, Konzepte) als auch Methodenwissen, das ein Verständnis für naturwissenschaftliche Methoden und ihre Grenzen sowie für Zweck und Funktion einzelner Aspekte wissenschaftlichen Arbeitens umfasst (Arnold, 2015). Die Praxis ist dagegen gekennzeichnet durch die Anwendung von Arbeitstechniken und Durchführung von Experimenten. Schüler*innen sollen sowohl experimentelle Fähigkeiten und Fertigkeiten erwerben, Methoden und Techniken kennenlernen, als auch Einblicke in das wissenschaftliche Denken erhalten (Mayer & Ziemek, 2006). Dabei wird das wissenschaftliche Denken als naturwissenschaftliches Problemlösen verstanden (Klahr, 2000; Klahr & Dunbar, 1988; Mayer, 2007). Experimentieren als Problemlöseprozess lässt sich in folgende Schritte sequenzieren (Duit & Mikelskis-Seifert, 2010; Klahr, 2000; Mayer & Ziemek, 2006; Nerdel, 2017):

(1) Fragestellungen und Hypothesen ableiten: Ausgehend von bekannten Theorien und Modellen oder aus explorativen Daten werden Untersuchungsfragen und begründete Vermutungen abgeleitet. Hypothesen sind dabei immer so zu formulieren, dass sie auch durch Experimente widerlegt werden können.
(2) Aussagekräftige Experimente planen: Zur Überprüfung der Hypothesen werden Experimente geplant, mit denen vermutete Ursache-Wirkungs-Beziehungen

zwischen den Variablen bestätigt oder verworfen werden können. Hierfür ist Variablenkontrolle und systematisches Vorgehen erforderlich. Im einfachsten Fall werden je ein Experimental- und Kontrollansatz vorbereitet (mit bzw. ohne Einwirkung der zu überprüfenden Variable, ► Abschn. 10.3). Experimente, bei denen mehrere Variablen gleichzeitig verändert werden, lassen dagegen keine eindeutigen Rückschlüsse auf die Wirkung einer mutmaßlichen Ursache zu.

(3) Durchführung von Experimenten: Hierzu gehört die Vorbereitung der benötigten Materialien sowie der Aufbau der Versuchsanordnung. Bei der Durchführung werden die ablaufenden Prozesse beobachtet und/oder gemessen. Vorgehen, Ablauf, Beobachtungen und Messwerte werden in geeigneter Weise dokumentiert (Beschreibungen, tabellarische Übersichten, Zeichnungen, Fotos etc.). Hierzu gehören insbesondere von der Planung abweichendes Vorgehen oder unvorhergesehene Ereignisse.

(4) Ergebnisse auswerten und interpretieren, Gültigkeit der Hypothesen: Die Daten werden grafisch und/ oder mathematisch ausgewertet, Zusammenhänge beschrieben und ihre Aussage mit Blick auf Forschungsfrage und Hypothesen interpretiert. Hierzu können z. B. Trends aus den Daten herausgelesen werden. Zur Interpretation der Ergebnisse und einer abschließenden verallgemeinernden Aussage zur Gültigkeit der Hypothese (Bestätigung vs. Falsifikation) gehört eine kritische Reflexion der Aussagekraft der Daten unter Berücksichtigung der verwendeten Forschungsmethodik und möglichen Limitationen. Die Darstellung der Ergebnisse muss intersubjektiv überprüfbar und anhand der Planung und Durchführung reproduzierbar sein.

Zur Förderung des wissenschaftlichen Denkens wird das *Forschende Lernen* als Methode im Biologieunterricht empfohlen (KMK, 2005; Mayer & Ziemek, 2006). Beim Forschenden Lernen werden ausgehend von authentischen Problemsituationen (► Abschn. 10.7.2) Fragestellungen und Hypothesen abgeleitet, Experimente und Untersuchungen geplant, durchgeführt und ihre Daten ausgewertet. Forschendes Lernen ist konstruktivistisch und kollaborativ angelegt, d. h. Schülerinnen und Schüler arbeiten selbstständig in kleinen Gruppen und konstruieren gemeinsam Wissen, wobei die Lehrperson als Moderator den Forschungsprozess der Lernenden unterstützt (Arnold et al., 2017). Auch wenn das Forschende Lernen sich in vielen Untersuchungen als lernwirksam erweist (zusammenfassend z. B. Arnold et al., 2017), ist diese Unterstützung insbesondere für Schüler*innen mit geringerem inhaltlichen und methodischen Vorwissen erforderlich, um diese nicht durch zu große Offenheit in der Bearbeitung der Problemsituation oder Fragestellung zu überfordern (Kirschner et al., 2006). Der Grad der Eigenständigkeit der Schüler*innen beim Experimentieren und die Hilfestellungen müssen entsprechend auf die Lerngruppe abgestimmt sein ◘ Tab. 10.3. (Mayer & Ziemek, 2006).

Beim Forschenden Lernen wird der zyklische Prozess des Problemlösens von der Fragestellung bis zur Interpretation der Daten von den Schüler*innen mit mehr oder weniger Unterstützung durch die Lehrkraft durchlaufen. Hier sollten häufig berichtete Schwierigkeiten von den Schüler*innen berücksichtigt werden.

Tab. 10.3 Grad der Selbstständigkeit beim Experimentieren aus Sicht der Schüler*innen. (Nach Mayer & Ziemek, 2006)

Grad	Fragestellung/ Hypothesen	Planung	Durch- führung	Auswertung	Inter- pretation
1	Lehrkraft	Lehrkraft/ Schüler*innen	Schüler- *innen	Schüler- *innen	Lehrkraft/ Schüler- *innen
2	Lehrkraft	Lehrkraft/ Schüler*innen	Schüler- *innen	Schüler- *innen	Lehrkraft/ Schüler- *innen
3	Lehrkraft/ Schüler*innen	Lehrkraft/ Schüler*innen	Schüler- *innen	Schüler- *innen	Schüler- *innen
4	Schüler*innen	Schüler*innen	Schüler- *innen	Schüler- *innen	Schüler- *innen

10.7.2.2 Schwierigkeiten beim Experimentieren

Auch wenn sich Schüler*innen mit dem Experiment als naturwissenschaftliche Arbeitsweise zur Erkenntnisgewinnung im schulischen Kontext vorwiegend auseinandersetzen, haben sie bereits durch alltägliche und medial vermittelte Erfahrungen Vorstellungen über das Experimentieren entwickelt (Duit & Treagust, 2003; Jong & van Joolingen, 1998). Entsprechend sollten auch diese bei der Unterrichtsplanung zum Forschenden Lernen berücksichtigt werden.

Hypothesen generieren. Schüler*innen haben häufig Schwierigkeiten, Hypothesen zu generieren (Chinn & Brewer, 1993), z. B. werden Hypothesen nicht verworfen, weil falsche Schlüsse aus widersprüchlichen Daten gezogen werden. Darüber hinaus werden widersprüchliche Daten auch ignoriert, um an der ursprünglichen Annahme festzuhalten, anstatt neue Hypothesen zu formulieren Schüler*innen fällt es darüber hinaus schwer, Alternativhypothesen oder widerlegbare Hypothesen zu formulieren (Dunbar, 1993; van Joolingen & Jong, 1993).

Experimente planen. Schüler*innen planen häufig nicht aussagekräftige Experimente und gehen bei der Überprüfung von Hypothesen nicht systematisch vor. Sie verändern beispielsweise mehrere Variablen gleichzeitig oder solche Variablen, die für die Überprüfung der Hypothesen nicht relevant sind, sodass keine gültigen Schlussfolgerungen aus dem Experiment gezogen werden können. Manche Experimente produzieren lediglich gewünschte Ergebnisse und dienen der Prozessoptimierung, anstatt die Hypothesen zu testen und das theoretische Modell dahinter zu verstehen (*engineering approach*: Schauble et al., 1991). Dieser Ansatz führt zu einer eingeschränkten Suche nach Lösungsoptionen und zum Fokus auf erfolgversprechende Variablen (Hypothesenbestätigung).

Interpretation von Daten. Bei der Datenauswertung und -interpretation finden erfolgreiche Lerner in der Regel mehr Gesetzmäßigkeiten in den Daten als weniger erfolgreiche Lerner (Schauble et al., 1991). Häufig werden Daten fehlinterpretiert.

Schüler*innen suchen vorzugsweise Ergebnisse, die die Hypothese bestätigen, anstatt sie zu widerlegen (*confirmation bias*: Jong & van Joolingen, 1998). Dabei scheint die Hypothese die Dateninterpretation zu leiten, anstatt die Dateninterpretation gezielt darauf auszurichten, widersprüchliche Befunde zur Hypothese zu suchen. Auch bei der Erstellung von Diagrammen, die zur grafischen Datenauswertung herangezogen werden können, wurden verschiedene Schwierigkeiten beobachtet (Kotzebue et al., 2015; Lachmayer, 2008).

10.7.2.3 Variable Adaption und modulare Umsetzung

Die hier vorgestellten Versuchsansätze (▶ Abschn. 10.3) lassen aufgrund ihrer Struktur eine Vielzahl an Variationsmöglichkeiten zu. Somit kann man individuellen Bedürfnissen, z. B. mit Blick auf den apparativen Aufwand, Anforderungen an Raum, Ort und Zeitbedarf, sowie der Unterstützung der Schüler*innen im Lehr-Lern-Prozess gerecht werden. Der modulare Aufbau ermöglicht neben der Umsetzung im Regelunterricht eine Erweiterung auf einen Nachmittag oder sogar auf eine Projektwoche. ◘ Abb. 10.12 zeigt eine schematische Übersicht der Modularisierung, des Zeitaufwands und möglicher Ansatzpunkte für die Individualisierung.

Neben der vollständigen Implementation in den Biologieunterricht kann didaktisch reduziert werden, ohne die Kernaussage des Versuchs (Laktose-Abbau und -Nachweis in Milch durch Co-Immobilisierung von Laktase (Abbau Laktose) mit Hefe (Nachweis des Reaktionsprodukts Glukose) in Alginat-Kügelchen) zu verändern. Je nach Schwerpunktsetzung können Teilbereiche zur Durchführung ausgewählt werden.

1. **Herstellung der Alginat-Kügelchen – Fokus auf Struktur-Eigenschafts-Beziehungen**

Hierbei bietet sich die *micro scale*-Variante an (◘ Abb. 10.4). Durch die praktische Umsetzung der Herstellung von Alginat-Kügelchen, können Struktur-Eigenschafts-Beziehungen experimentell nachvollzogen werden, ohne die Kügelchen für einen Einschlussversuch weiter zu nutzen. Trotzdem kann die Aufgabe in einen alltagsbezogenen Kontext gesetzt werden, z. B. Gelbildner in der Küche (Alginat, Gelatine). So wird eine Durchführung des Versuchs bereits in jüngeren Jahrgangsstufen (z. B. Natur und Technik) möglich, ohne die Aspekte der Enzymkinetik in den Unterricht zu integrieren. Um trotzdem den vollständigen Weg der Erkenntnisgewinnung zu durchlaufen, bieten sich zwei Themenbereiche an. Erstens die oben beschriebenen Gel-Unterschiede mit der Überprüfung physikalischer Einflüsse, z. B. wie reagiert Alginat auf Hitze, Kälte, Druck, Reißen etc. Zweitens die Herstellung der Kügelchen an sich, z. B. eingebettet in die Forschungsfrage „Wie werden die rundesten Kugeln hergestellt?“. Dabei können Teilbereiche der Versuchsdurchführung variiert werden, z. B. Tropfhöhe, Schwenk-/Rührgeschwindigkeit, Haltbarkeitsstudien, Lagerungsparameter (feucht, trocken, kühl etc.). Für die Umsetzung im Unterricht sollten 30 Minuten eingeplant werden.

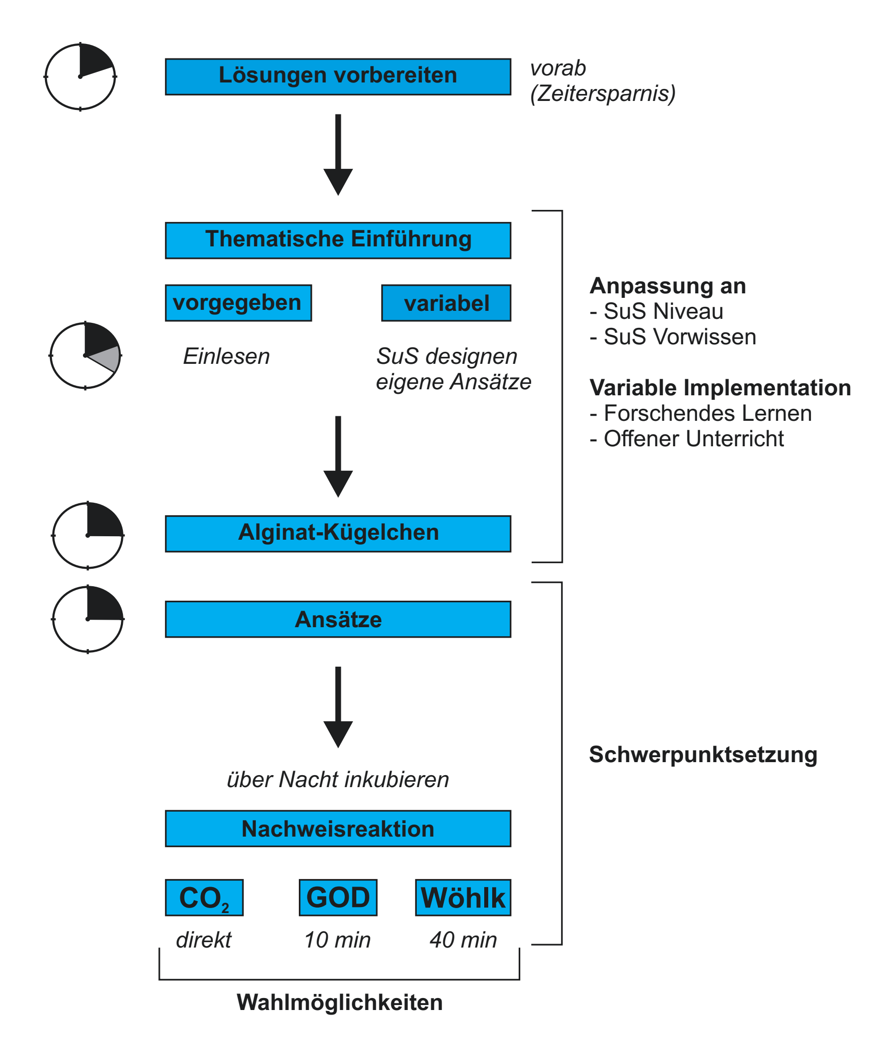


Abb. 10.12 Übersicht der Adaptionsmöglichkeiten des Versuchs Enzymimmobilisierung im Klassenraum. Dieser Versuch lässt aufgrund seiner Struktur eine Breite an Variationsmöglichkeiten zu. Neben der vollständigen Implementation können verschiedene Bereiche weggelassen werden, ohne die Kernaussage des Versuchs (Nachweis des Laktose-Abbaus in Milch durch co-immobilisierte Hefe und Laktase) zu beeinträchtigen

2. **Vorbereitung der Reaktionsansätze: Abbau von Laktose durch Laktase**

Vorab hergestellte Alginat-Kügelchen können von den Schüler*innen direkt für ihre Experimente mit immobilisierten Enzymen verwendet werden. Die zusätzliche Zeit könnte im Unterricht genutzt werden, um Schüler*innen im Sinne des Forschenden Lernens zu ermöglichen, eigenen Hypothesen nachzugehen und ihre Experimente passend zur gewählten Fragestellung zu planen. Dabei kann der

Grad der Offenheit beim Experimentieren frei gewählt werden (vgl. Mayer & Ziemek, 2006). Durch die thematische Schwerpunktsetzung wird die Anzahl an Experimenten und damit die Auswahl an Alginat-Kügelchen-Varianten bestimmt. Durch eine geschickte Wahl kann das dazu führen, dass die Umsetzung im Unterricht weiter reduziert werden kann. Beispielsweise könnten nur Hefe-Alginat-Kügelchen zur Analyse der Zucker-Verstoffwechselung von Hefe in verschiedenen Zuckerlösungen (Konzentrationsreihe oder Zuckersorten, z. B. Saccharose, Fructose) zur Verfügung stehen. Für die praktische Umsetzung im Unterricht sollten 30 Minuten eingeplant werden. Diese Angabe muss um den zeitlichen Rahmen, den Sie Ihren Schüler*innen für den Entwurf ihrer eigenen Ansätze geben, erweitert werden.

3. **Nachweisreaktionen**

Nachweisreaktionen ermöglichen die Analyse des Reaktionsverlaufs. Der Aufbau der Reaktionsansätze, wie in ◘ Abb. 10.5 vorgestellt, erlaubt die direkte Visualisierung des Reaktionsverlaufs durch Entfärbung des Phenolphthaleins in Kalkwasser.[3] Kohlendioxid entsteht nur bei Stoffwechselvorgängen der Hefe, die wiederum nur Glukose (und nicht Laktose) umsetzen kann. Entsprechend ist die Durchführung weiterer Nachweisreaktionen optional und richtet sich nach dem Grad der gewünschten Intensivierung. Unter Verwendung von Teststreifen dauert der GOD-Test etwa zehn Minuten (ca. 100 Proben). Für die Durchführung der Wöhlk-Probe sollten 30 Minuten eingeplant werden. Darüber hinaus kann der GOD-Test und die Wöhlk-Probe auch unabhängig vom vorgestellten Kontext im Unterricht mit Milchprodukten durchgeführt werden (◘ Abb. 10.8 und ◘ 10.9). Die Kernaussage des Versuchs kann so allerdings nicht mehr berücksichtigt werden.

10.8 Online-Material

Zur weiteren Vertiefung steht Ihnen zusätzliches Material online zur Verfügung (sn.pub/rEt5bJ). Unter anderem finden Sie dort die Flussdiagramme in detaillierter Ausführung. Diese eignen sich als Arbeitsanweisungen für Schüler*innen für die praktische Umsetzung und können direkt ausgedruckt werden. Entsprechend stehen Ihnen auch die Bild- und Videodateien zur Nutzung im Unterricht zur Verfügung. Des Weiteren finden Sie dort verschiedene Aufgabenformate zu versuchsspezifischen Fragen. Online haben Sie die Möglichkeit, sich aus diesen individuelle Arbeitsblätter zusammenzustellen. Die Musterlösungen werden Ihnen dort ebenfalls angegeben.

3 Alternativ kann der Universalindikator Blaukrautsaft verwendet werden.

▶ **Beispiel**

Auszug eines Arbeitsblatts für *Food Wars Episode II.*

Industrielle Prozesse erfordern unter anderem eine hohe Kontrolle des Reaktionsprozesses und eine Reduktion der Produktionskosten bei enzymatischen Prozessen.

a. Definieren Sie den Begriff Enzymimmobilisierung.
b. Nennen Sie die drei häufigsten Arten der Enzymimmobilisierung, erklären Sie deren unterschiedliche Mechanismen und geben Sie mögliche Vor- und/oder Nachteile der jeweiligen Immobilisierung an.
c. Zeichnen Sie eine Art der Enzymimmobilisierung Ihrer Wahl. ◀

Das hier vorgestellte Versuchskonzept kann ohne weitere Sicherheitsregularien an Schulen durchgeführt werden. Trotzdem können Sie online die entsprechenden Sicherheitsdatenblätter abrufen (sn.pub/rEt5bJ).

Zusammenfassung

Zucker und Enzyme, beides sind umfangreiche Themenkomplexe, die in den Lehrplänen an verschiedenen Stellen adressiert werden können. Im Kontext der laktosefreien Milchprodukte können sie miteinander verbunden werden, wodurch gleichzeitig Präkonzepte der Schüler*innen zur Enzymkinetik und Stoffwechsel adressiert werden können. Das vorgestellte Versuchssetting ist sehr adaptiv und lässt sich u. a. wegen seines *micro scale*-Charakters einfach auf Experimente im Rahmen des Forschenden Lernens ausweiten Dieses Kapitel enthält eine detaillierte Anleitung zur Durchführung mit wichtigen Hinweisen, wie Sie typische Fehler adressieren können. Zusätzlich enthält es eine Einleitung zu den Versuchsvariablen und Hintergründen zur industriellen Herstellung laktosefreier Milchprodukte und Enzymimmobilisierung.

Literatur

Annemüller, G., Manger, H. J., & Lietz, P. (2008). *Die Hefe in der Brauerei: Hefemanagement, Kulturhefe-Hefereinzucht, Hefepropagation im Bierherstellungsprozess*. LB-Versuchs-u. Lehranstalt f. Brauerei

Ansari, S. A., Ahmad, S. I., Jafri, M. A., Naseer, M. I., & Satar, R. (2018). Utility of functionalized agarose nanoparticles in hydrolyzing lactose in batch reactors for dairy industries. *Química Nova, 41*(4), 429–433.

Arnold, J. (2015). *Die Wirksamkeit von Lernunterstützungen beim Forschenden Lernen: Eine Interventionsstudie zur Förderung des Wissenschaftlichen Denkens in der gymnasialen Oberstufe*. Logos.

Arnold, J., Kremer, K., & Mayer, J. (2017). Scaffolding beim Forschenden Lernen. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften: ZfDN, 23*(1), 21–37. https://doi.org/10.1007/s40573-016-0053-0

Basso, A., & Serban, S. (2020). Overview of immobilized enzymes' applications in pharmaceutical, chemical, and food industry. In J. M. Guisan, J. M. Bolivar, F. López-Gallego, & J. Rocha-Martín (Hrsg.), *Immobilization of enzymes and cells* (4. Aufl. 2020 ed., S. 27–63). Springer US; Imprint Humana.

Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N. E., & Eccleston, G. M. (2008). Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences, 97*(8), 2892–2923.

Borzouee, F., Varshosaz, J., Cohan, R. A., Norouzian, D., & Pirposhteh, R. T. (2021). A comparative analysis of different enzyme immobilization nanomaterials: Progress, constraints and recent trends. *Current Medicinal Chemistry, 28*(20), 3980–4003. https://doi.org/10.2174/0929867328999201214225249

Bybee, R. W. (2004). Scientific inquiry and science teaching. In L. B. Flick & N. G. Lederman (Hrsg.), *Scientific inquiry and nature of science* (Bd. 25, S. 1–14). Springer Netherlands.

Chen, W.-g., Chen, H., Xia, Y., Yang, J., Zhao, J., Tian, F., … Zhang, H. (2009). Immobilization of recombinant thermostable β-galactosidase from Bacillus stearothermophilus for lactose hydrolysis in milk. *Journal of Dairy Science, 92*(2), 491–498.

Chinn, C. A., & Brewer, W. F. (1993). The role of anomalous data in knowledge acquisition: A theoretical framework and implications for science instruction. *Review of Educational Research, 63*(1), 1–49. https://doi.org/10.3102/00346543063001001

da Cruz, S. H., Batistote, M., & Ernandes, J. R. (2003). Effect of sugar catabolite repression in correlation with the structural complexity of the nitrogen source on yeast growth and fermentation. *Journal of the Institute of Brewing, 109*(4), 349–355. https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2003.tb00609.x

Damin, B. I. S., Kovalski, F. C., Fischer, J., Piccin, J. S., & Dettmer, A. (2021). Challenges and perspectives of the β-galactosidase enzyme. *Applied Microbiology and Biotechnology, 105*(13), 5281–5298. https://doi.org/10.1007/s00253-021-11423-7

Ding, S., Cargill, A. A., Medintz, I. L., & Claussen, J. C. (2015). Increasing the activity of immobilized enzymes with nanoparticle conjugation. *Current opinion in biotechnology, 34*, 242–250.

Draget, K. I., Smidsrød, O., & Skjåk-Bræk, G. (2005). *Alginates from algae*: Polysaccharides and polyamides in the food industry: properties, production, and patents.

Duit, R., & Mikelskis-Seifert, S. (2010). Zur Rolle der Lernerperspektiven im Projekt Physik im Kontext. In D. Höttecke (Hrsg.), *Entwicklung naturwissenschaftlichen Denkens zwischen Phänomen und Systematik. Jahrestagung in Dresden 2009* (S. 332–334). Lit Verl.

Duit, R., & Treagust, D. F. (2003). Conceptual change: A powerful framework for improving science teaching and learning. *International Journal of Science Education, 25*(6), 671–688. https://doi.org/10.1080/09500690305016

Dunbar, K. (1993). Concept discovery in a scientific domain. *Cognitive Science, 17*(3), 397–434. https://doi.org/10.1207/s15516709cog1703_3

Eş, I., Vieira, J. D. G., & Amaral, A. C. (2015). Principles, techniques, and applications of biocatalyst immobilization for industrial application. *Applied Microbiology and Biotechnology, 99*(5), 2065–2082.

Flick, L. B., & Lederman, N. G. (Hrsg.). (2004). *Scientific inquiry and nature of science*. Springer Netherlands.

Grasselli, M., Diaz, L., & Cascone, O. (1993). Beaded matrices from cross-linked alginate for affinity and ion exchange chromatography of proteins. *Biotechnology Techniques, 7*(10), 707–712.

Harju, M., Kallioinen, H., & Tossavainen, O. (2012). Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects. *International Dairy Journal, 22*(2), 104–109.

Hofstein, A., & Lunetta, V. N. (2004). The laboratory in science education: Foundations for the twenty-first century. *Science Education, 88*(1), 28–54. https://doi.org/10.1002/sce.10106

Hoon Kim, J., Jegal, J., Hye Kim, J., Lee, K. H., & Lee, Y. (2003). Enantioselective permeation of α-amino acid optical isomers through crosslinked sodium alginate membranes. *Journal of Applied Polymer Science, 89*(11), 3046–3051.

Huber, W. (1996). Nachweis-, Erfassungs-und Bestimmungsgrenze. In *Statistische Methoden* (S. 187–199). Springer.

ISB, S. f. S. u. B. (2022). LehrplanPlus Bayern. www.lehrplanplus.bayern.de. Zugegriffen am 17.02.2022.

Jong, T., & van Joolingen, W. R. (1998). Scientific discovery learning with computer simulations of conceptual domains. *Review of Educational Research, 68*(2), 179–201. https://doi.org/10.3102/00346543068002179

van Joolingen, W. R., & Jong, T. (1993). Exploring a domain with a computer simulation: Traversing variable and relation space with the help of a hypothesis scratchpad. In D. Towne, T. Jong, & H. Spada (Hrsg.), *Simulation-based experiential learning* (S. 191–206). Springer.

Katrolia, P., Liu, X., Li, G., & Kopparapu, N. K. (2019). Enhanced properties and lactose hydrolysis efficiencies of food-grade β-galactosidases immobilized on various supports: A comparative approach. *Applied Biochemistry and Biotechnology, 188*(2), 410–423. https://doi.org/10.1007/s12010-018-2927-8

Kirschner, P. A., Sweller, J., & Clark, R. E. (2006). Why minimal guidance during instruction does not work: An analysis of the failure of constructivist, discovery, problem-based, experiential, and inquiry-based teaching. *Educational Psychologist, 41*(2), 75–86. https://doi.org/10.1207/s15326985ep4102_1

Klahr, D. (2000). *Exploring science: The cognition and development of discovery processes*. The MIT Press.

Klahr, D., & Dunbar, K. (1988). Dual Space Search During Scientific Reasoning. *Cognitive Science, 12*(1), 1–48. https://doi.org/10.1207/s15516709cog1201_1

KMK. (2019). Richtlinie zur Sicherheit im Unterricht (RiSU): Empfehlung der Kultusministerkonferenz. https://www.kmk.org/fileadmin/Dateien/veroeffentlichungen_beschluesse/1994/1994_09_09-Sicherheit-im-Unterricht.pdf. Zugegriffen am 09.11.2021.

Kotzebue, L., Gerstl, M., & Nerdel, C. (2015). Common mistakes in the construction of diagrams in biological contexts. *Research in Science Education, 45*(2), 193–213. https://doi.org/10.1007/s11165-014-9419-9

Kultusministerkonferenz (Hrsg.). (2020). *Bildungsstandards im Fach Biologie für die Allgemeine Hochschulreife: (Beschluss der Kultusministerkonferenz vom 18.06.2020)*. Wolters Kluwer Deutschland GmbH.

Kultusministerkonferenz, K. M. K. (2005). Standards für die Lehrerbildung: Bildungswissenschaften. http://www.kmk.org/fileadmin/Dateien/veroeffentlichungen_beschluesse/2004/2004_12_16--Standards-Lehrerbildung.pdf. Zugegriffen am 14.10.2016.

Lachmayer, S. (2008). *Entwicklung und Überprüfung eines Strukturmodells der Diagrammkompetenz für den Biologieunterricht.* Dissertation. Christian-Albrechts-Universität, Kiel. https://macau.uni-kiel.de/receive/diss_mods_00003041. Zugegriffen am 10.02.2021.

Lederman, N. G., Abd-El-Khalick, F., Bell, R. L., & Schwartz, R. S. (2002). Views of nature of science questionnaire: Toward valid and meaningful assessment of learners' conceptions of nature of science. *Journal of Research in Science Teaching, 39*(6), 497–521. https://doi.org/10.1002/tea.10034

Lomer, M. C. E., Parkes, G. C., & Sanderson, J. D. (2008). lactose intolerance in clinical practice–myths and realities. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 27*(2), 93–103.

Mangan, D., McCleary, B. V., Culleton, H., Cornaggia, C., Ivory, R., McKie, V. A., … Kargelis, T. (2019). A novel enzymatic method for the measurement of lactose in lactose-free products. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 99*(2), 947–956.

Mayer, J. (2007). Erkenntnisgewinnung als wissenschaftliches Problemlösen. In D. Krüger & H. Vogt (Hrsg.), *Theorien in der biologiedidaktischen Forschung* (S. 177–186). Springer.

Mayer, J., & Ziemek, H.-P. (2006). Offenes Experimentieren. Forschendes Lernen im Biologieunterricht. *Unterricht Biologie, 30*(317), 4–12.

Moe, S. T., Skjaak-Braek, G., Elgsaeter, A., & Smidsroed, O. (1993). Swelling of covalently crosslinked alginate gels: Influence of ionic solutes and nonpolar solvents. *Macromolecules, 26*(14), 3589–3597.

Mohamad, N. R., Marzuki, N. H. C., Buang, N. A., Huyop, F., & Wahab, R. A. (2015). An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes. *Biotechnology & Biotechnological Equipment, 29*(2), 205–220.

Nerdel, C. (2017). Naturwissenschaftliches Arbeiten. In C. Nerdel (Hrsg.), *Grundlagen der Naturwissenschaftsdidaktik* (S. 113–148). Springer.

Pawar, S. N., & Edgar, K. J. (2012). Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials, 33*(11), 3279–3305.

Ramsey, D. M., & Wozniak, D. J. (2005). Understanding the control of Pseudomonas aeruginosa alginate synthesis and the prospects for management of chronic infections in cystic fibrosis. *Molecular Microbiology, 56*(2), 309–322.

Robinson, P. K. (2015). Enzymes: Principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry, 59*, 1–41. https://doi.org/10.1042/bse0590001

Rueda, N., Dos Santos, J. C. S., Ortiz, C., Torres, R., Barbosa, O., Rodrigues, R. C., … Fernandez-Lafuente, R. (2016). Chemical modification in the design of immobilized enzyme biocatalysts: Drawbacks and opportunities. *The Chemical Record, 16*(3), 1436–1455.

Ruppersberg, K., Herzog, S., Kussler, M. W., & Parchmann, I. (2019). How to visualize the different lactose content of dairy products by Fearon's test and Woehlk test in classroom experiments and a new approach to the mechanisms and formulae of the mysterious red dyes. *Chemistry Teacher International, 0*(0). https://doi.org/10.1515/cti-2019-0008

Schauble, L., Klopfer, L. E., & Raghavan, K. (1991). Students' transition from an engineering model to a science model of experimentation. *Journal of Research in Science Teaching, 28*(9), 859–882. https://doi.org/10.1002/tea.3660280910

Schopfer, P. (1989). *Experimentelle Pflanzenphysiologie*. Springer.

Vasiljevic, T., & Jelen, P. (2001). Production of β-galactosidase for lactose hydrolysis in milk and dairy products using thermophilic lactic acid bacteria. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2*(2), 75–85.

Velasco-Lozano, S., López-Gallego, F., Mateos-Díaz, J. C., & Favela-Torres, E. (2016). Cross-linked enzyme aggregates (CLEA) in enzyme improvement–a review. *Biocatalysis, 1*(open-issue), 166–177.

Wisotzky, F., Cremer, N., & Lenk, S. (2018). *Angewandte Grundwasserchemie, Hydrogeologie und hydrogeochemische Modellierung. Grundlagen, Anwendungen und Problemlösungen*. Springer.

Zimmermann, H., Zimmermann, D., Reuss, R., Feilen, P. J., Manz, B., Katsen, A., … Gessner, P. (2005). Towards a medically approved technology for alginate-based microcapsules allowing long-term immunoisolated transplantation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 16*(6), 491–501.



Eine runde Sache: W-Seminar-Angebote an bayerischen Gymnasien

Inhaltsverzeichnis

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7_11

11.1 Impuls

Auch wenn Sie Ihre Schüler*innen mit den vorgestellten Versuchen in die Tiefen der Molekularbiologie und Biotechnologie entführen können, ist ein praktischer Einblick in den experimentellen Weg *Von der DNA zum Protein* nur mit einem S1-Labor zu erreichen, dass die Arbeit mit gentechnisch veränderten Organismen erlaubt. DNA-analytische Techniken sind dabei der erste Schritt, doch häufig bietet die endgültige Erklärung eines Phänomens erst die Proteinanalyse. S1-Labore sind kostenintensiv und daher an Schulen äußerst selten zu finden, daher bietet sich an dieser Stelle die Kooperation mit nahe gelegenen Universitäten an.[1] Mit Blick auf eine zunehmende Digitalisierung in den Schulen bieten sich für diese Zusammenarbeit auch ganz neue Perspektiven mit Blick auf eine computermediierte Kollaboration (► Abschn. 7.6.3), wenn die nächste Universität in größerer Entfernung liegt und nicht ohne größeren Aufwand zu erreichen ist. Im Folgenden zeigen wir daher unterschiedliche Modelle der Schülerforschung auf und stellen Ihnen ein Kooperationsmodell zwischen Schule und Universität im Rahmen eines W-Seminars[2] (bayerisches Pendant der Facharbeitsseminare) vor. Die Autorinnen sind überzeugt, dass in dieser Form der Zusammenarbeit der Schlüssel für eine effektive Förderung junger Nachwuchswissenschaftler*innen und angehender qualifizierter Fachkräfte in den MINT-Fächern liegen kann.

11.2 Schülerforschung an Universitäten und Schulen

11.2.1 Universitäten als außerschulische Lernorte für Schülerforschung

Unter *Außerschulischen Lernorten* werden Lerngelegenheiten außerhalb der Schule oder des institutionellen Rahmens zusammengefasst. Bei Schülerlaboren und Schülerforschungszentren, die für die Biotechnologie besonders bedeutsam sind, handelt es sich um didaktische Lernorte, bei denen die Eigentätigkeit der Schüler*innen zentral ist (Haupt et al., 2013). Im Gegensatz zu Schülerlaboren, die oft im Klassenverband besucht werden und die ihre Wirkung in der Breitenförderung entfalten sollen, bieten Schülerforschungszentren interessierten und leistungsstarken Jugendlichen an, sich auch in der Freizeit eigenständig mit einem Forschungsgegenstand über längere Zeit auseinanderzusetzen. Bei der Gestaltung kommt dem interdisziplinären Kontext und der Authentizität, d. h. dem Erleben der realen Arbeitssituation von Wissenschaftler*innen in ihren Laboren oder sonstigen wissenschaftlichen Einrichtungen mit entsprechender Materialausstattung und Methodenrepertoire, eine besondere Bedeutung zu (Sommer et al., 2020).

---

1 Schülerlabor-Atlas: ► https://www.schuelerlabor-atlas.de/.

2 Das *wissenschaftspropädeutische Seminar* (W-Seminar) soll die Ausprägung überfachlicher Kompetenzen unterstützen und zur Studierfähigkeit und Profilbildung von Schüler*innen beitragen. Nähere Infos unter ► http://www.oberstufe.bayern.de/w-seminar/.

Der Besuch von außerschulischen Lernorten wirkt sich kurz- bis mittelfristig positiv auf das MINT-Interesse der Schüler*innen sowie deren Selbstkonzept bzw. Selbstwirksamkeit aus; die Effekte sind insbesondere bei Einzelveranstaltungen nur kurzfristig nachweisbar (z. B. Brandt et al., 2008; Itzek-Greulich, 2020; Pawek, 2020; Stake & Mares, 2001). Auch die Förderung von Fachkenntnissen und beruflicher Orientierung wurde bereits untersucht und ein (kurzfristiger) positiver Effekt auf den Wissenserwerb festgestellt (u. a. Brandt et al., 2008; Engeln, 2004; Kim, 2016; Weßnigk, 2013). Gleichzeitig gewinnen die Schüler*innen Einblicke in wissenschaftliche Arbeitsweisen sowie Studien- und Berufsfelder (Schütte & Köller, 2015; Sumfleth & Henke, 2011). In diesem Zusammenhang ist der positive Einfluss von schulischer Vor- und Nachbereitung bei Schülerlaborbesuchen auf aktuelles Interesse oder Wissenserwerb von Bedeutung, die als Konsequenz immer wieder gefordert, aber bislang noch zu selten umgesetzt wird (z. B. Heike Itzek-Greulich & Vollmer, 2018; Pawek, 2020). Werden praktische mit theoretischen Einheiten konsistent verknüpft, führt das zu einer Steigerung sowohl der Schüler*innen-Leistung als auch ihrer Einstellung zum jeweiligen Fach (Guderian & Priemer, 2008).

11.2.2 Begabtenförderung

Außerschulische Lernorte sind für die Begabtenförderung besonders wichtig, weil eine adäquate Förderung durch die Heterogenität der Interessen und z. T. stark ausgeprägte Vorwissens- und Leistungsunterschiede in den MINT-Fächern im curricularen Unterricht oft gar nicht möglich ist. Unter begabten und leistungsstarken Jugendlichen werden in unserem Fall solche Schüler*innen verstanden, die besonderes Interesse, hervorragende Leistungen und überobligatorisches Engagement in den MINT-Fächern zeigen. Diese Schüler*innen können sich an außerschulischen Lernorten im Sinne eines *Enrichment* unter Anleitung von Expert*innen vertieft mit bestimmten Themengebieten auseinandersetzen. Gleichzeitig können sie durch das gemeinsame Forschen in Kleingruppen Gleichgesinnte kennenlernen und sich austauschen. Soziale Eingebundenheit kann die nachhaltige Ausbildung von Interessen begünstigen (Ryan & Deci, 2000). Nur beim positiven Zusammenwirken des sozialen Kontextes und des Potenzials der Jugendlichen kann es zu herausragenden Leistungen kommen.

11.2.3 Vernetzung von außerschulischem und schulischem Lernen

Eine Gelingensbedingung für den Erfolg außerschulischer MINT-Bildung ist die Verknüpfung mit der Schule. Einmalige oder kurzfristige Schülerforschungsangebote sollten curricular und didaktisch sinnvoll eingebunden sowie in der Schule vor- und nachbereitet werden, um Lerneffekte erzielen zu können (Itzek-Greulich & Vollmer, 2017). Die konstruktive Zusammenarbeit von Lehr-

personen, Schulleitungen und Mitarbeiter*innen wissenschaftlicher Institutionen in sog. *Learning communities* werden in der internationalen Bildungsforschung seit den 1980er-Jahren als Instrument der Schulentwicklung und zur Verbesserung von Unterrichtsqualität intensiv diskutiert. *Professionelle Lerngemeinschaften* von Lehrkräften und anderen Beteiligten sind auch hierzulade gut etabliert und haben durch verschiedene Modellprogramme (z. B. SINUS (Ostermeier et al., 2004) oder die Kontextprogramme (Bayrhuber et al., 2007; Gräsel & Parchmann, 2004; Mikelskis-Seifert & Duit, 2007)) zur Einbindung von Innovationen in den Unterricht, z. B. Lernen in Kontexten oder Nutzung digitaler Medien, und damit einhergehender Schul- und Unterrichtsentwicklung eine längere Tradition; ihre Wirksamkeit ist empirisch belegt (z. B. Holtappels, 2020).

Professionelle Lerngemeinschaften sind im Wesentlichen durch fünf Merkmale gekennzeichnet (vgl. (Warwas & Schadt, 2020): (1) Sie entwickeln gemeinsame Zielsetzungen für die Unterrichtsgestaltung; (2) sie haben einen klaren Fokus auf das Lernen von Schüler*innen mit einer unterstützenden Hilfe- und Fehlerkultur (Bonsen & Rolff, 2006); (3) sie führen einen kontinuierlichen, reflexiven Dialog über Lehren und Lernen, z. B. durch Erprobung und Bewertung neuer Lehransätze; (4) sie de-privatisieren ihren Unterricht, indem ihre Mitglieder Wissen und professionelle Erfahrungen teilen; (5) sie konstruieren gemeinsam neues Wissen und Lehransätze (vgl. ► Abschn. 5.2, Kollaboration). Darüber hinaus beurteilen die Mitglieder einer Lerngemeinschaft den Erfolg und die Wirksamkeit prozessbegleitend durch die Rückmeldungen einer wissenschaftlichen formativen Evaluation und können von diesen Erkenntnissen bei ihrer Weiterentwicklung der Innovation schnell profitieren (Gräsel, 2010; Gräsel & Parchmann, 2004). Kooperation kann so zur Einbindung von Innovationen in Schule und Unterricht wirksam beitragen (Borko, 2004; Gräsel et al., 2008; Gräsel & Parchmann, 2004; Krebs, 2008).

Mithilfe solcher Bildungsinstitutionen-übergreifenden Kooperation unter Berücksichtigung von Forscher*innen aus den MINT-Domänen kann auch am außerschulischen Lernort initiierte, regelmäßig stattfindende Schülerforschung im schulischen Kontext gemeinsam weiterentwickelt oder umgekehrt schulische Schülerforschungsprojekte, z. B. aus Facharbeiten oder Wettbewerbsteilnahmen, durch Schülerlabore, Schülerforschungszentren oder allgemein wissenschaftliche Institutionen unterstützt werden. Für fortgeschrittene Jahrgänge gibt es geeignete schulische Formate, um den Zugang zur Studien- und Berufsorientierung durch Schülerforschung zu vertiefen (z. B. in Bayern: W- und P-Seminare)[3]. Lehrkräfte sollten entsprechend das Potenzial von MINT-begabten Schüler*innen für die Schülerforschung diagnostizieren (Praetorius et al., 2011), für die Teilnahme an außerschulischen MINT-Programmen motivieren und diese adäquat bei der Entwicklung von Projektideen unterstützen können (Itzek-Greulich, 2020). Innovative Forschungsthemen, wie sie am außerschulischen Lernort bearbeitet werden, stellen für Lehrkräfte eine Herausforderung dar (► Abschn. 11.4), weil sie sich stetig ändern und daher nicht in den Lehramtscurricula in ausreichender Breite und Tiefe

---

3 P-Seminar: Format zur Bearbeitung praxisorientierter Projektthemen über die Dauer der Oberstufe ► http://www.oberstufe.bayern.de/p-seminar/.

behandelt werden. Lehrkräfte sollten daher durch Fortbildungsangebote unterstützt werden, um in der Umsetzung von Schülerforschung bestärkt zu werden. Besuche außerschulischer Lerngelegenheiten stellen ferner durch ihre fachspezifische und methodische Praxis eine sinnvolle Ergänzung zur professionellen Expertise der Lehrkräfte dar (Killermann et al., 2011; Mannott et al., 2018).

Vor diesem Hintergrund möchten wir mit diesem Kapitel dazu motivieren, die Angebote umliegender außerschulischer Lernorte für Ihre Unterrichtspraxis zu nutzen und mit diesen Einrichtungen zusammenzuarbeiten, um sich wechselseitig kennenzulernen, über aktuelle Schülerforschungsprojekte zu informieren und regelmäßig zur Weiterentwicklung der Inhalte zusammenzuarbeiten, um das Studien- und Berufsinteresse der Schüler*innen in einem gemeinsamen Netzwerk langfristig aufrechtzuerhalten (Schütte & Köller, 2015; Sumfleth & Henke, 2011). Durch die aktuellen Erfahrungen und die Verbesserung der Infrastruktur während der COVID-19-Pandemie kann zukünftig effektiver auf digitale Tools (Lernplattformen, Videokonferenzsysteme) bei der Umsetzung der Kooperation in Kombination mit Präsenz vor Ort zurückgegriffen werden, um eine klare Rollenverteilung zwischen Wissenschaftler*innen und betreuenden Lehrpersonen und die Zuständigkeiten bei der Schülerforschung zu definieren und die Reichweite des Netzwerks über die Grenzen einer Region hinaus zu vergrößern.

11.3 Exemplarische Konzeption kooperativ durchgeführter W-Seminare

Schulische W-Seminare in Bayern verfolgen allgemein die Zielsetzung, Schüler*innen fachübergreifende Kompetenzen zu vermitteln, damit sie ein wissenschaftliches Studium bewältigen können.[4] Werden die W-Seminare in Kooperation mit einer Universität gestaltet, erhalten interessierte Schüler*innen unmittelbar praktische Einblicke in den universitären Forschungsalltag der Wissenschaftler*innen. In der hier beschriebenen Zusammenarbeit wurde dies exemplarisch an grundlegenden biotechnologischen Methoden zur Gewinnung und Analyse rekombinant erzeugter Proteine realisiert.

Kontaktaufnahme und erste Planungsschritte beginnen bereits ein Jahr vor der Durchführung des W-Seminars, weil die Umsetzung des praktischen Teils des W-Seminars an der Universität an die Verfügbarkeit eines S1-Labors geknüpft ist. Mit der interessierten Lehrkraft wird daher bereits ein Jahr vor der Praxis die verbindliche Zusammenarbeit festgelegt. Ein halbes Jahr vor der praktischen Umsetzung im S1-Labor wählen die Schüler*innen jeweils aus einem Themenkatalog ihren individuellen theoretischen Schwerpunkt zur Umsetzung verschiedener proteinchemischer Methoden aus. In enger Abstimmung mit der Seminarlehrkraft werden hierzu im Vorfeld die verschiedenen Themen definiert. Wünsche von Seiten der Schüler*innen werden bei der Themenstellung berücksichtigt. Zur Einarbeitung in die individuelle Thematik wird den Schüler*innen vorab ein Skript zur Verfügung

4 ► http://www.oberstufe.bayern.de/w-seminar/.

gestellt. Während der einwöchigen Praxis im S1-Labor befassen sich die Teilnehmenden über die DNA-Analytik hinaus intensiv mit dem Gebiet der Proteinchemie und lernen neben ihrem Schwerpunktthema den vollständigen Ablauf zur Erzeugung eines rekombinanten Proteins aus *Escherichia coli* (*E. coli*) kennen. Um eine intensive Betreuung der Schüler*innen zu gewährleisten, wird in Kleingruppen gearbeitet. Unter Verwendung modernster Techniken und Gerätschaften können zeitintensive Analysemethoden wie das Western-Blotting an einem Praktikumstag durchgeführt werden. Die Teilnehmenden haben währenddessen immer die Möglichkeit, sich mit den Wissenschaftler*innen fachlich auszutauschen und Unklarheiten zu besprechen. In der Regel sind die hier bearbeiteten Themen viel komplexer als diejenigen im Biologieunterricht und gehen weit über die Lehrplaninhalte des Lernbereichs Genetik und Gentechnik der Sekundarstufe II hinaus. Trotz eines individuellen Schwerpunkts wird bei der praktischen Umsetzung darauf Wert gelegt, dass alle Schüler*innen den vollständigen Ablauf des Arbeitens mit *E. coli* Bakterien zur rekombinanten Herstellung von Enzymen kennenlernen und selbst durchführen. Nach der Isolierung eines fluoreszierenden Zielproteins wird dieses chromatografisch gereinigt und mit gängigen Analyseverfahren charakterisiert.

Ein Auszug möglicher Themenschwerpunkte zur Anwendung proteinchemischer Methoden ist nachfolgend gezeigt.

- Erzeugung eines rekombinanten Plasmids zur Herstellung von Grün fluoreszierendem Protein (GFP) in *E. coli*
- Reinigung rekombinanter Plasmid-DNA aus *E. coli* durch Verwendung eines standardisierten Kits und Analyse mittels Agarose-Gelelektrophorese
- Transformation – molekularbiologische Methode zur Erzeugung gentechnisch veränderter *E. coli*-Bakterien
- Kultivierung und Zellaufschluss rekombinanter *E. coli*-Bakterien zur Expression und Isolierung des gewünschten Zielproteins
- Einsatz erster chromatografischer Methoden zur Aufreinigung von Proteinen
- SDS-PAGE – Verfahren zur Trennung und Analyse von Proteinen
- Fotometrische Methoden zur Konzentrationsbestimmung von Proteinen
- Western-Blotting – immunchemische Methode zur Detektion von Proteinen

Die Seminarlehrkraft bereitet ihre Schüler*innen in ihrem Seminar theoretisch auf die Laborpraxis vor. Neben den molekularbiologischen Grundlagen, wie z. B. Aufbau der DNA, Replikation, Proteinbiosynthese und Gentechnik, werden auch erste praktische Aspekte behandelt (▶ Kap. 5). Praktische Fertigkeiten werden themenbezogen geübt, zum Beispiel die Isolierung von DNA aus einer Zwiebel oder den Umgang mit Mikroliterpipetten bei der Einführung kleinster Volumina. Die einwöchige Betreuung im S1-Labor wird durch die Universität übernommen, wobei die Lehrkraft ihre Schüler*innen an ausgewählten Praktikumstagen im Labor gerne begleiten darf. Die Schüler*innen werden während der Praxis von zwei Wissenschaftler*innen betreut. In enger Abstimmung zwischen der Lehrkraft und der Wissenschaftler*in erfolgt die Korrektur der wissenschaftlichen Arbeit der Schüler*innen. Der fachwissenschaftliche Teil wird hier zunächst von dem/der Wissenschaftler*in kommentiert und eine erste Einschätzung zur Gesamtheit der

Arbeit abgegeben. Die finale Beurteilung der Arbeit erfolgt dann durch die jeweilige Lehrkraft.

Damit Sie als Leser*in einen authentischen Eindruck gewinnen können, ob es auch für Sie sinnvoll sein kann, im Bereich der Biotechnologie ein W-Seminar in Kooperation mit einer Universität Ihren Schüler*innen anzubieten, beschreibt eine mit uns kooperierende Lehrkraft eines bayerischen Gymnasiums in der Nähe von München im nächsten Abschnitt ihre Erfahrungen, die sie im Rahmen ihres W-Seminars mit uns an der Technischen Universität München gemacht hat (s. ► Abschn. 11.4).

11.4 „Freiwillige gesucht!" oder die Antwort auf die Frage, warum man als Lehrkraft eben DOCH ein W-Seminar durchführen sollte (*von Nina Ostermeier*)

Das Szenario an Schulen ist jedes Jahr dasselbe: Die Oberstufenkoordinator*innen suchen – oft regelrecht verzweifelt – nach einer ausreichend großen Anzahl an Lehrkräften, die ein W-Seminar anbieten. Die mangelnde Begeisterung seitens des Lehrpersonals lässt sich durchaus erklären: Wissenschaftspropädeutisch soll es sein, das Seminar, also zu wissenschaftlichen Denk- und Arbeitsweisen hinführen und nach Vorgabe des ISB[5] forschendes Lernen ermöglichen. Das Idealergebnis: Schüler*innen, die zu einem wissenschaftlichen Studium befähigt sind. Allerdings gibt es keinen vorgegebenen Weg zu diesem hochgesteckten Ziel, keinen Lehrplan, an dem man sich, wie gewohnt, entlanghangeln kann. Endlich Gestaltungsspielraum, endlich eine Möglichkeit eigene Ideen umzusetzen …, oder? Die so verlockend klingende Freiheit führt bei Lehrkräften gelegentlich zu Unsicherheit und etwas später, wenn man sich schließlich zu einem Seminar überreden hat lassen, zu der Erkenntnis, dass ein enormer Arbeitsaufwand damit verbunden ist, diese hochgesteckten Ziele zu erreichen.

Optimismus und Kreativität sind sicherlich Eigenschaften, die einem in solch einer Situation weiterhelfen. Perfektionismus hingegen stellt einen bei der Planung eines W-Seminars zum Rahmenthema Molekularbiologie durchaus vor Herausforderungen: Biologie ist bekanntlich ein Experimentalfach und genau diese Eigenschaft erweist sich vielen anderen Fächern gegenüber oft als riesengroßer Vorteil. Denkt man später an die Schulzeit zurück, sind es die Versuche, die Schüler*innen in Erinnerung bleiben: der explodierende Knallgasballon (zur Veranschaulichung der Notwendigkeit einer Atmungskette), die sezierte Forelle, oder eine „Autobahn" an Paramecien unter dem Mikroskop. Für mich war also sofort klar, dass meine Schüler*innen keine reine Recherchearbeit anfertigen, sondern den Schwerpunkt ihrer Arbeit auf einen Praxisteil legen sollten. Durch eine sehr gute Laborausstattung an unserer Schule waren einfache molekularbiologische Versuche möglich. Aber echtes wissenschaftliches Arbeiten ohne Sicherheitslabor? Moderne

5 Staatsinstitut für Schulqualität und Bildungsforschung.

molekularbiologische Verfahren nur theoretisch vermitteln, weil die praktische Umsetzung an den extrem teuren Reagenzien und Versuchsapparaturen scheitert? Wandelte sich im wissenschaftsorientierten W-Seminar der Experimentalcharakter des Faches Biologie von einem Vor- in einen Nachteil? Rat war nun teuer, wenn man die Schüler*innen gemäß des Lehrplanauftrags auf ein (natur-)wissenschaftliches Studium vorbereiten will, aber sämtliche Voraussetzungen für die praktische Umsetzung nicht gegeben sind. Letztlich erwies sich völlig unverhofft die Universität als die perfekte Lösung für all meine Probleme.

Die Entscheidung für die TU-München als Kooperationspartner fiel für mich aus zwei Gründen sehr schnell: Zum einen hatte ich Frau Dr. Schöppner in mehreren Fortbildungen bereits als sehr kompetente und engagierte Biologin kennengelernt. Ich war mir bei ihr sicher, dass sie den schwierigen Spagat zwischen Schülerwissen und Forschungsansatz schaffen würde. Zum anderen wusste ich aus den Lehrgängen von der hervorragenden Ausstattung der Studentenlabore. In mehreren Telefonaten stellte sich heraus, dass sechs Schüler*innen während der Sommerferien die Möglichkeit erhalten sollten, eine Laborwoche mit dem Thema „Proteine als Bausteine des Lebens" an der TU München zu absolvieren, die wissenschaftliches Arbeiten in den Bereichen der Molekularbiologie und Biochemie auf neuestem Stand versprach. Mit diesem Wissen startete ich im Schuljahr 2018/ 19 in mein W-Seminar.

Das erste Semester meines W-Seminars nutzte ich, um den Schüler*innen die Grundlagen der Molekularbiologie näher zu bringen: Aufbau der DNA, Replikation, Proteinbiosynthese und Gentechnik, um nur einige Bereiche zu nennen. Praktische Fertigkeiten übten wir jeweils themenbezogen mit ein, so zum Beispiel die Isolierung von DNA aus einer Zwiebel oder den Umgang mit Mikroliterpipetten bei der Einführung kleinster Volumina. Es ist immer wieder faszinierend zu sehen, dass man oft mit einfachsten Methoden, wie dem Pipettieren eines 1 Mikroliter großen „Tropfens" Tintenwasser, die Begeisterung seiner Schüler*innen wecken kann. Als krönenden Abschluss des Semesters führte ich mit meinem W-Seminar in einem vierstündigen Praktikum einen Test auf den Besitz des Bitterschmecker-Gens durch, inklusive Isolation und Restriktion eigener DNA, Vervielfältigung durch PCR und Auftrennung durch Gelelektrophorese. Die Anleitung zu diesem Praktikum hatte ich auf einer Fortbildung bei Frau Dr. Schöppner kennengelernt und es ermöglichte den Schüler*innen bereits, in die gängigsten Standardverfahren molekularbiologisch arbeitender Labors hinein zu schnuppern.

Was sich hier für manchen unrealisierbar oder extrem ambitioniert anhört, ist in Wahrheit mit etwas Motivation und Aufgeschlossenheit für jede Lehrkraft einfach durchzuführen. Alle Fortbildungsteilnehmer*innen können sämtliche Versuchsapparaturen von der TU München kostenlos leihen und sogar die Reagenzien werden in bereits fertig vorbereiteten Schülerportionen zur Verfügung gestellt – in Zeiten ohne BTA an Schulen für jeden Biologielehrer ein Traum! Nach diesem halben Jahr hatten also meine Schüler*innen eine Vorstellung von Aufbau, Vermehrung, Veränderung, Isolierung und Auftrennung von DNA bekommen und damit eine solide Grundlage zur Teilnahme am Laborpraktikum der TU-München gelegt.

Es ist nun natürlich Illusion zu glauben, dass Schüler*innen allein durch ihr erworbenes Wissen aus dem W-Seminar in der Lage sind, den theoretischen

(geschweige denn den praktischen) Ablauf wissenschaftlicher Verfahren wie einer SDS-PAGE oder eines Western Blot vollumfassend zu verstehen. Der Sprung von schulischen Inhalten aus dem Bereich der Molekularbiologie und Biochemie zu forschenden Arbeitsweisen in einem Labor ist ein immens großer. Doch auch hier zeigte sich die Kooperation als ideale Lösung: Vorbereitend zum Laborpraktikum erhielten die Schüler*innen ein von Frau Dr. Schöppner erstelltes, maßgeschneidertes Skript mit allen Versuchsanleitungen und Hintergrundinformationen zu den einzelnen proteinchemischen Forschungsmethoden sowie eine Literaturliste, die sich vor allem bei der späteren Anfertigung der Seminararbeit als große Hilfe erwies. Unklare Sachverhalte und Verständnisschwierigkeiten konnten jederzeit während des Laborpraktikums oder per Email mit Frau Dr. Schöppner geklärt werden.

Sowohl die Vorbereitung des TU-Praktikums als auch die Durchführung waren für mich – abgesehen von den regulären Unterrichtsstunden – lediglich mit einigen wenigen organisatorischen Tätigkeiten und Telefonaten verbunden und deshalb eine enorme Arbeitsentlastung im Vergleich zu meinen an der Schule von mir selbst betreuten Schüler*innen. Auch die Sorge, sich als Lehrkraft in hochkomplexe Themeninhalte so einarbeiten zu müssen, dass wirklich alle Problemstellungen beantwortet werden können, erwies sich als unbegründet, da sämtliche Fragen der Schüler*innen während des Laborpraktikums von Frau Dr. Schöppner und Frau Stich beantwortet wurden. Der im wahrsten Sinne des Wortes paradiesische Betreuungsschlüssel von 3:1 tat sein Übriges. Der ein oder andere wird hier eventuell anmerken, dass die „gemeine Lehrkraft", die meist gerne selbst das Zepter führt, ihr Heft durch diese Verfahrensweise völlig aus der Hand gebe. Aber obwohl mir die Betreuung des Laborpraktikums komplett abgenommen wurde, fühlte ich mich zu jeder Zeit über alle Abläufe und Vorgehensweisen informiert und in alle Entscheidungen integriert. Auch mein persönliches Anliegen, den organisatorischen Ablauf eines Labortages und das Arbeitsverhalten meiner Schüler*innen selbst miterleben zu können, wurde mir dankenswerterweise problemlos ermöglicht. Bei meinem eintägigen Besuch im Labor war ich – trotz meiner bereits hohen Erwartungen – sehr davon angetan, wie extrem professionell, didaktisch geschickt und trotzdem wissenschaftlich die Versuche angeleitet wurden.

Nun ist der dargestellte Sachverhalt zugegebenermaßen meine subjektive Lehrersicht. Jedoch zeigte sich bei einer von mir im nachfolgenden Unterricht durchgeführten Evaluation des Praktikums, dass auch die Schüler*innen fast ausnahmslos begeistert waren. Insbesondere der gute Betreuungsschlüssel, die übersichtlichen und gut verständlichen Versuchsanleitungen, die hohe Fachkompetenz der Betreuungspersonen und die professionelle und hochmoderne Ausstattung des Labors wurden lobend hervorgehoben. „Ohne dieses Laborpraktikum hätte ich niemals, selbst an keinem Tag der offenen Tür, einen so tiefgreifenden Einblick in die Arbeitsweisen eines Labors bekommen können. Ich bin wirklich dankbar diese Möglichkeit gehabt zu haben!", so das Fazit eines Schülers.

Auch die Betreuung der Schüler*innen während der abschließenden Erstellung ihrer Seminararbeit war im Übrigen ein tolles Beispiel für Teamwork: Zwar wurden die Beratungsgespräche selbstverständlich von mir durchgeführt, jedoch stand

Frau Dr. Schöppner auch hier den Schüler*innen für Fachfragen weiterhin zur Verfügung und entlastete mich damit wesentlich.

Kann man nun also ein W-Seminar – mit echtem wissenschaftlichen Anspruch – in einer Naturwissenschaft guten Gewissens und mit normalem Arbeitsaufwand durchführen? Die Antwort ist ein eindeutiges JA! Die Kooperation mit der TU München erwies sich für mich in jeglicher Hinsicht als absoluter Glücksfall. Aufgrund der Sicherheitsbestimmungen und der finanziellen Ausstattung von Schulen wäre ein wissenschaftliches Arbeiten auf neuestem Stand im Bereich der Molekularbiologie nicht umsetzbar gewesen. Und obwohl dieser Themenbereich zu meinen absoluten Interessensgebieten gehört und ich deshalb mehrmalig Fortbildungen dazu besucht habe, reicht mein Wissen bei Weitem nicht an das der Betreuungspersonen des Laborpraktikums heran. Ein sowohl inhaltlich als auch ausstattungstechnisch so qualitativ hochwertiges W-Seminar hätte ich meinen Schüler*innen in Eigenregie niemals bieten können. Und die Arbeitsentlastung der betreuenden Lehrkraft – in diesem Fall also meiner selbst – ist dabei definitiv ein sehr willkommenes Zusatzgeschenk. Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die Vor- und Nachteile einer Kooperation sowohl aus Schüler*innen- als auch Lehrer*innen-Perspektive (◘ Tab. 11.1).

◘ **Tab. 11.1 Vor- und Nachteile einer Kooperation zwischen Universität und Schule aus unterschiedlichen Sichtweisen**

Pros Schüler*innen	**Cons Schüler*innen**
Betreuung in Kleinstgruppen	Müssen sich während der Ferien eine Woche Zeit nehmen
Gut verständliches Schüler-Skript zur Vorbereitung	
Literaturliste zur weiteren Vertiefung der Thematik	
Fachlicher Austausch mit den Betreuungspersonen jederzeit problemlos möglich (auch per E-Mail)	
Arbeiten auf neuestem wissenschaftlichen Stand	
Hochmodern ausgestattetes Labor	
Tiefgreifender Einblick in wissenschaftliches Arbeiten	
Keine Kosten	
Durch öffentliche Verkehrsmittel gut erreichbar	
Pros Lehrkräfte	**Cons Lehrkräfte**
Enge Kooperation	Langfristige Planung notwendig um Laborplätze zu sichern
Extreme Zeitersparnis und Arbeitsentlastung bei Vorbereitung und Betreuung	Man muss den Mut haben, die Kontrolle ein Stück weit abzugeben
Ermöglicht Versuche mit Sicherheitsstandards	
Hilfestellung bei Themenfindung und Korrektur	

11.5 Fachwissenschaftlicher Hintergrund

Die Gebiete molekulare Biologie und Biotechnologie gewannen in Forschung, Wirtschaft und Gesellschaft in Deutschland während der letzten Jahrzehnte verstärkt an Bedeutung. Mit Entdeckung der Biotechnologie in den frühen 1970er Jahren (Cohen et al., 1973; Smith & Welcox, 1970; Wu & Taylor, 1971) wurde die Entwicklung einer neuen Generation von Humantherapeutika erst möglich. Wesentlicher Grundstein war hierfür die Erfindung der DNA-Rekombinationstechnologie.

Mit Erfindung der DNA-Rekombinationstechnologie wurde die gezielte Veränderung der genetischen Ausstattung von Organismen erst möglich. Diese Technik setzt Enzyme voraus, welche die Spaltung, Verknüpfung und Replikation von DNA ermöglichen und die Reverse Transkription von RNA herbeiführen. Zur gerichteten Klonierung von PCR-Produkten werden diese durch Restriktionsenzyme an ihren Enden geschnitten und in entsprechend vorbereitete Vektoren ligiert (Christen et al., 2016, p. 516). Durch die Wahl entsprechender Primer können die Restriktionsschnittstellen am Gen des Zielproteins eingebaut werden. Durch das Einschleusen der Fremd-DNA in einen Wirtsorganismus (z. B. *E. coli*), können dann die rekombinanten Konstrukte, d. h. die Plasmide, in die das gewünschte DNA-Fragment ligiert ist, repliziert werden.

Plasmide sind natürliche, z. B. in Bakterien zusätzlich zum Chromosom vorkommende, ringförmige DNA-Moleküle. Wichtig ist, dass sich Plasmide autonom in ihrem Wirt vermehren. Ausgehend von in der Natur vorkommenden Plasmiden wurden gentechnisch rekombinante Vektoren erzeugt, die es erlauben, Fremdgene in Bakterien einzuschleusen. Diese Plasmide tragen zusätzlich Antibiotikaresistenzen, durch die eine Selektion der rekombinanten Mikroorganismen bei der Vermehrung erst möglich wird.

Zunächst wird ein entsprechendes rekombinantes DNA-Molekül erzeugt (enthält Zielgensequenz). Dieses rekombinante DNA-Molekül kann dann durch Transformation in eine Wirtszelle (hier: *E. coli*) vervielfältigt werden. Nach Erhalt eines positiven Klons erfolgt die Expression des gewünschten Proteins in *E. coli*. Nach der Anzucht kann das Protein durch Aufschluss der *E. coli*-Zellen isoliert und chromatografisch aufgereinigt werden. Nach jeder chromatografischen Reinigung werden die gesammelten Fraktionen hinsichtlich des Vorhandenseins des Zielproteins und dessen Reinheitsgrades überprüft. Dies erfolgt mittels SDS-PAGE. Das Zielprotein kann nach erfolgreicher Reinigung anhand einer Vielzahl von Analysemethoden (z. B. fotometrisch oder immunchemisch) charakterisiert werden.

Zusammenfassung

Viele molekularbiologische Standardmethoden, insbesondere solche zur Proteinherstellung, sind auf die Umsetzung in einem S1-Labor beschränkt. In diesem Kapitel wird ein Methodenrepertoire vorgestellt, das im Rahmen eines Kooperationsprojekts zwischen Universitäten und Schulen interessierten Schüler*innen einen tieferen Einblick in die Methoden der Protein-Biochemie ermöglicht.

Literatur

Bayrhuber, H., Bögeholz, S., Eggert, S., Elster, D., Grube, C., Hößle, C., et al. (Hrsg.). (2007). Biologie im Kontext – Erste Forschungsergebnisse. *Der mathematische und naturwissenschaftliche Unterricht, 60*(5), 304–313.

Bonsen, M., & Rolff, H.-G. (2006). Professionelle Lerngemeinschaften von Lehrerinnen und Lehrern. Paralleltitel: Professional learning communities of teachers. *Zeitschrift für Pädagogik, 52*(2), 167–184. Online verfügbar unter https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:0111-opus-44518.

Borko, H. (2004). Professional development and teacher learning: Mapping the terrain. *Educational Researcher, 33*(8), 3–15. https://doi.org/10.3102/0013189X033008003

Brandt, A., Möller, J., & Kohse-Höinghaus, K. (2008). Was bewirken außerschulische Experimentierlabors? *Zeitschrift für Pädagogische Psychologie, 22*(1), 5–12. https://doi.org/10.1024/1010-0652.22.1.5

Christen, P., Jaussi, R., & Benoit, R. (2016). *Biochemie und Molekularbiologie*. Springer.

Cohen, S. N., Chang, A. C., Boyer, H. W., & Helling, R. B. (1973). Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 70*(11), 3240–3244. https://doi.org/10.1073/pnas.70.11.3240

Engeln, K. (2004). *Schülerlabors. Authentische, aktivierende Lernumgebungen als Möglichkeit, Interesse an Naturwissenschaften und Technik zu wecken*. Logos (Studien zum Physiklernen. 36).

Gräsel, C. (2010). Stichwort: Transfer und Transferforschung im Bildungsbereich. *Zeitschrift für Erziehungswissenschaft, 13*(1), 7–20. https://doi.org/10.1007/s11618-010-0109-8

Gräsel, C., & Parchmann, I. (2004). Implementationsforschung – oder: der steinige Weg. *Unterricht zu verändern*. https://doi.org/10.25656/01:5813

Gräsel, C., Fussangel, K., & Schellenbach-Zell, J. (2008). Transfer einer Unterrichtsinnovation. Das Beispiel Chemie im Kontext. In E.-M. Lankes (Hrsg.), *Pädagogische Professionalität als Gegenstand empirischer Forschung* (S. 207–218). Waxmann.

Guderian, P., & Priemer, B. (2008). Interessenförderung durch Schülerlaborbesuche – eine Zusammenfassung der Forschung in Deutschland. *Physik und Didaktik in Schule und Hochschule, 2*(7), 27–36.

Haupt, O. J., Domjahn, J., Martin, U., Skiebe-Corrette, P., Vorst, S., Zehren, W., & Hempelmann, R. (Hrsg.). (2013). Schülerlabor – Begriffsschärfung und Kategorisierung. *Der mathematische und naturwissenschaftliche Unterricht, 66*(6), 324–330.

Holtappels, H. G. (2020). Professionelle Lerngemeinschaften –Systematisierung und Forschungsbefunde zu Merkmalen und Wirkungen von Teamhandeln. In K. Kansteiner, C. Stamann, C. G. Buhren, & P. Theurl (Hrsg.), *Professionelle Lerngemeinschaften als Entwicklungsinstrument im Bildungswesen* (1. Aufl., S. 64–83). Beltz Juventa.

Itzek-Greulich, H. (2020). Die Anbindung von Schülerlaborprojekten an die Schule. In K. A. Sommer, J. T. C. Wirth, & M. G. Vanderbeke (Hrsg.), *Handbuch Forschen im Schülerlabor. Theoretische Grundlagen, empirische Forschungsmethoden und aktuelle Anwendungsgebiete* (S. 139–150). Waxmann.

Itzek-Greulich, H., & Vollmer, C. (2017). Emotional and motivational outcomes of lab work in the secondary intermediate track: The contribution of a science center outreach lab. *Journal of Research in Science Teaching, 54*(1), 3–28. https://doi.org/10.1002/tea.21334

Itzek-Greulich, H., & Vollmer, C. (2018). Quantitative Forschung zur Authentizität der Wissenschaftsvermittlung im Schülerlabor. Ein Diskussionsbeitrag. *Unterrichtswissenschaft, 46*(3), 321–326.

Killermann, W., Hiering, P., & Starosta, B. (2011). *Biologieunterricht heute. Eine moderne Fachdidaktik*. Auer.

Kim, M. (2016). A meta-analysis of the effects of enrichment programs on gifted students. *The Gifted Child Quarterly, 60*(2), 102–116. https://doi.org/10.1177/0016986216630607

Krebs, I. (2008). Wie gelingt die Verbreitung eines Unterrichtsentwicklungsprogramms? Das Beispiel SINUS-Transfer. In E.-M. Lankes (Hrsg.), *Pädagogische Professionalität als Gegenstand empirischer Forschung* (S. 219–231). Waxmann.

Mannott, S., Nerdel, C., & Brück, T. (2018). Besuch eines Schülerlabors – ein netter Ausflug vor den Sommerferien? *Biologie in unserer Zeit, 48*(2), 91–92. https://doi.org/10.1002/biuz.201870208

Mikelskis-Seifert, S., & Duit, R. (2007). Aus Bildung und Wissenschaft – Physik im Kontext. *Der mathematische und naturwissenschaftliche Unterricht, 60*(5), 265–273.

Ostermeier, C., Carstensen, C. H., Prenzel, M., & Geiser, H. (2004). Thema – Implementationsforschung – Kooperative unterrichtsbezogene Qualitätsentwicklung in Netzwerken: Ausgangsbedingungen für die Implementation im BLK-Modellversuchsprogramm SINUS. *Unterrichtswissenschaft (Weinheim), 32*(3), 215–237.

Pawek, C. (2020). Die Bedeutung der Schülerlabore für das Fähigkeitsselbstkonzept ihrer Gäste. In K. A. Sommer, J. T. C. Wirth, & M. G. Vanderbeke (Hrsg.), *Handbuch Forschen im Schülerlabor. Theoretische Grundlagen, empirische Forschungsmethoden und aktuelle Anwendungsgebiete* (S. 99–110). Waxmann.

Praetorius, A.-K., Karst, K., Dickhäuser, O., & Lipowsky, F. (2011). Wie gut schätzen Lehrer die Fähigkeitsselbstkonzepte ihrer Schüler ein? Zur diagnostischen Kompetenz von Lehrkräften. *PEU*, (2). https://doi.org/10.2378/peu2010.art30d

Ryan, R. M., & Deci, E. L. (2000). Self-determination theory and the facilitation of intrinsic motivation, social development, and well-being. *American Psychologist, 55*(1), 68–78. https://doi.org/10.1037/0003-066x.55.1.68

Schütte, K., & Köller, O. (2015). 'Discover, understand, implement, and transfer': Effectiveness of an intervention programme to motivate students for science. *International Journal of Science Education, 37*(14), 2306–2325. https://doi.org/10.1080/09500693.2015.1077537

Smith, H. O., & Welcox, K. W. (1970). A Restriction enzyme from Hemophilus influenzae. *Journal of Molecular Biology, 51*(2), 379–391. https://doi.org/10.1016/0022-2836(70)90149-X

Sommer, K., Firstein, A., & Rothstein, B. (2020). Authentizität (der Wissenschaftsvermittlung) im Schülerlabor. In K. A. Sommer, J. T. C. Wirth, & M. G. Vanderbeke (Hrsg.), *Handbuch Forschen im Schülerlabor. Theoretische Grundlagen, empirische Forschungsmethoden und aktuelle Anwendungsgebiete* (S. 21–30). Waxmann.

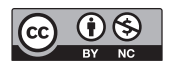
Stake, J. E., & Mares, K. R. (2001). Science enrichment programs for gifted high school girls and boys: Predictors of program impact on science confidence and motivation. *Journal of Research in Science Teaching, 38*(10), 1065–1088. https://doi.org/10.1002/tea.10001

Sumfleth, E., & Henke, C. (2011). Förderung leistungsstarker Oberstufenschülerinnen und-schüler im HIGHSEA-Projekt am Alfred-Wegener Institut, Bremerhaven. *Zeitschrift für Didaktik der Naturwissenschaften, 17*, 89–113.

Warwas, J. und Schadt C. (2020): Zur Modellierung Professioneller Lerngemeinschaften – Vergleich und Integration unterschiedlicher Ansätze. In: Katja Kansteiner, Christoph Stamann, Claus G. Buhren und Peter Theurl (Hg.): Professionelle Lerngemeinschaften als Entwicklungsinstrument im Bildungswesen. 1. : Beltz Juventa, S. 37–48.

Weßnigk, S. (2013). Kooperatives Arbeiten an industrienahen außerschulischen Lernorten. Dissertation. Christian-Albrechts-Universität, Kiel. Leibniz Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften. https://macau.uni-kiel.de/receive/diss_mods_00010788.

Wu, R., & Taylor, E. (1971). Nucleotide sequence analysis of DNA: II. Complete nucleotide sequence of the cohesive ends of bacteriophage λ DNA. *Journal of Molecular Biology, 57*(3), 491–511. https://doi.org/10.1016/0022-2836(71)90105-7


BY NC

Serviceteil

P. Schöppner et al., *Biotechnologie praxisorientiert unterrichten*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-65210-7

Glossar

Allel Genvariante; Ausprägung eines Gens an einem bestimmten Genort; unterschiedliche Allele tragen zur genetischen Variabilität einer Population bei

Alginat Salz der Alginsäure; vorkommend in Braunalgen

Alkaloid Organische, stickstoffhaltige und meist alkalische natürlich vorkommende Verbindungen

β-Galaktosidase Enzyme, die endständig (Exoglycosidasen) die Hydrolyse der glykosidischen Bindung von *β*-Galaktopyranosiden katalysieren. Dabei entsteht das Monosaccharid Galaktose. Die bakterielle *β*-Galaktosidase aus dem Darmbakterium *E. coli* hydrolysiert das Disaccharid Laktose in D-Galaktose und in D-Glukose.

Glykosid Organisch, chemische Verbindung, wobei ein Alkohol (R-OH) mit einem Zuckerrest (Z) über eine glykosidische Bindung verbunden ist. Es resultiert eine Struktur R-O-Z.

Biokatalysator(en) Sammelbezeichnung in lebenden Organismen, die chemische Reaktionen beschleunigen oder in anderer Weise fördern. Beispiele sind vor allem Enzyme (Biokatalysatoren i. e. S.), aber auch Hormone, Vitamine, Spurenelemente (Bioelemente, Mikronährstoffe) und pflanzliche Wuchsstoffe (Phytohormone)[1]

Biokompatibilität Verträglichkeit von Wirkstoffen gegenüber dem lebenden Organismus

Chronotyp Als Chronotypen bezeichnet man Typisierungen von Individuen, die sich aufgrund ihrer jeweiligen inneren biologischen Uhr hinsichtlich physischer Merkmale (z. B. Temperatur, Schlaf-Wach-Phasen) unterscheiden.

Circadianer Rhythmus Fähigkeit eines Organismus die physiologischen Vorgänge und Verhalten an die 24 stündige Rhythmik der Erdumdrehung anzupassen.

Circannuale Rhythmus Fähigkeit eines Organismus die physiologischen Vorgänge und Verhalten an die Jahresrhythmik der Erdwanderung um die Sonne anzupassen, z. B. Vogelzug, Fellwechsel.

1 Online Auftritt Spektrum – Lexikon der Biologie: ► https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/biokatalysatoren/8644. Zugegriffen am 12.01.2022

CFTR Abkürzung für c*ystic fibrosis transmembrane conductance regulator*. Dieses Protein ist als integraler Ionenkanal an der Aufrechterhaltung, z. B. der Lungenfunktion beteiligt; verschiedene Mutationen führen zu unterschiedlichen Ausprägungen an Zystischer Fibrose.

Cyanobakterium Cyanobakterien werden aufgrund ihres fehlenden Zellkerns zu den Prokaryoten und damit den Bakterien gezählt. Sie gehören zu den ältesten Lebewesen. Viele Cyanobakterien sind in der Lage oxigene Photosynthese zu betreiben.

Deletionsmutation Verlust eines oder mehrerer Nukleotidpaare

Dimerisierung In der Biochemie bezeichnet Dimerisierung die Zusammenlagerung zweier Einheiten (Monomere) zu einem Dimer, die überwiegend auf nichtkovalenten Bindungen basiert.

Effektor(en) Ein Regulationsmolekül, das auf die Reaktionsgeschwindigkeit eines Enzyms Einfluss nimmt, indem es dieses entweder stabilisiert oder inhibiert.

Enterozyt(en) Enterozyten sind die letzte Zellschicht des Darms, welche sich v. a. durch ihre Mikrovilli auszeichnen und für den Stofftransport zuständig sind.

Enzymimmobilisierung Räumliche Fixierung von Enzymen, die zu einer Verlagerung der katalytischen Aktivität führt und reversibel oder irreversibel erfolgen kann.

Epigenetik Fachrichtung, die sich mit Genaktivitäten befasst, welche weder auf Mutation noch Rekombination der DNA zurückzuführen sind. Epigenetische Effekte entstehen durch Veränderung der Chromatinstruktur oder Methylierungen der DNA.[2]

Exon Abschnitt der genomischen DNA, der in reifer mRNA erhalten bleibt; Kodierende DNA-Abschnitte in einem Gen

Genlocus Auch Genort, die physische Position eines Gens im Genom.

genetische Prädisposition Als genetische Prädisposition bezeichnet man die Wahrscheinlichkeit mit der sich eine Pathologie entwickelt, die sich aus der Struktur oder Zusammensetzung des Erbguts ergibt.

genomische DNA Gesamtheit der vererbbaren Gene eines Individuums

---

2 Online Auftritt Nature Journal: ► https://www.nature.com/articles/nature02625?free=2 (Egger, G., Liang, G., Aparicio, A., & Jones, P. A. (2004). Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, *429*(6990), 457–463).

Genregulation Die sowohl von der Zelle selbst (endogen) als auch durch äußere Einflüsse (exogen) verursachte Steuerung der Aktivität von Genen.

Glukose-Oxidase-Test Chemische Nachweismethode für Glukose, die klinisch bei Diabetes Mellitus Patienten Anwendung findet und in verschiedenen Test-Kits erhältlich ist. Weiterführende Literatur unter[3]

Heterozygot Wenn ein Gen auf den beiden homologen Chromosomen in unterschiedlichen Varianten vorliegt.

Homöostase Ein Spezialfall der Selbstregulation von offenen Systemen, welcher durch intern regelnde Prozesse zu einem Gleichgewichtszustand führt.

Homozygot Wenn die zwei Kopien eines Gens auf den beiden homologen Chromosomen in identischer Ausführung vorliegen.

Inkubationszeit Zeit, in der kontrollierte Umgebungsbedingungen beibehalten werden, z. B. zur Durchführung eines wissenschaftlichen Experiments oder der Kultivierung von Mikroorganismen.

Intron Nicht-codierende Abschnitte eines Eukaryoten-Gens, welche benachbarte Exons voneinander trennen. Vor der Translation werden intronische Bereiche aus der mRNA herausgeschnitten (Spleißen).

Konformation Anordnung eines Moleküls im Raum.

Laktase-Nicht-Persistenz (LNP) Der natürliche Verlauf der Genexpression von Laktase-Phlorizin-Hydrolase bedingt, dass die Expression im Erwachsenenalter nicht mehr stattfindet, sodass der Konsum von Laktose zu Symptomen, wie z. B. Blähungen, führt.

Laktase-Persistenz (LP) Durch eine Mutation in der regulatorischen Einheit findet die Genexpression von Laktase-Phlorizin-Hydrolase auch im Erwachsenenalter statt und ermöglicht den symptomfreien Konsum von Laktose.

Laktase-Phlorizin-Hydrolase (LPH) Im Dünndarm lokalisiertes Enzym, das Laktose hydrolytisch in Glukose und Galaktose spaltet.

Laktoseunverträglichkeit Bezeichnet den physiologischen Zustand, der zu Symptomen, wie z. B. Blähungen bei einem (übermäßigen) Konsum von Laktose führt.

3 Vertiefende Literatur: ► https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975009000536 (Bankar, S. B., Bule, M. V., Singhal, R. S., & Ananthanarayan, L. (2009). Glucose oxidase—an overview. *Biotechnology Advances*, *27*(4), 489–501). Zugegriffen am 27.01.2022

Ligand Molekül, das reversibel an ein Zielmolekül bindet und von diesem nicht umgesetzt wird.

Loci s. Genlocus

Mucosa Schutzschicht, die das innere von Holorganen auskleidet, z. B. Mund- und Nasenhöhle.

Mutation(en) Eine Mutation stellt eine zufällige Veränderung der genetischen Information an einem Genort dar. Es werden Chromosomen- und Punktmutationen unterschieden. Ist die Zahl, die Form oder der strukturelle Aufbau von Chromosomen verändert, spricht man von einer Chromosomen-Mutation. Punktmutationen stellen Veränderungen in der Sequenz der Basenpaare eines Genoms dar, die innerhalb eines Gens oder außerhalb im nicht codierenden Teil liegen können.

Negativkontrolle Ansatz eines wissenschaftlichen Experiments, der dazu dient ein negatives Ergebnis zu verifizieren.

Pellet Ablagerung von Zellen oder Zelltrümmern am Boden eines Reaktionsgefäßes im Anschluss an die Zentrifugation.

Periphere Uhr Molekularer Mechanismus in körpereigenen Zellen zur Aufrechterhaltung der circadianen Homöostase, welche durch neuronale oder hormonelle Signale gesteuert wird.

Polymorphismus Ist als Vorkommen mehrerer, verschiedener Allele eines Gens innerhalb einer Population zu verstehen. Ein Beispiel ist der Einzelnukleotid-Polymorphismus, auch SNP (*single nucleotid polymorphism*) genannt, bei dem die Unterschiede der Allele eines Gens auf einen einzelnen Nucleotid zurückgeht.

Positivkontrolle Ansatz eines wissenschaftlichen Experiments, der dazu dient ein positives Ergebnis zu verifizieren.

Pränataldiagnostik Medizinische Untersuchungen des Ungeborenen während der Schwangerschaft, auch um Erkrankungen oder Schädigungen des ungeborenen Kindes erkennen zu können

Primer Einzelsträngige Oligonukleotide, meist aus 20–30 Nukleotiden aufgebaut; werden in der PCR zur Vervollständigung der komplementären DNA-Einzelstränge als Ausgangspunkt für die Polymerase verwendet. Der vorwärts Primer ist dabei komplementär zum Start der Zielsequenz, der rückwärts Primer ist komplementär zum Ende der Zielsequenz.

Primerdimer Zusammenlagerung von Primern, die als Schmierbande in Agarose-Gelen sichtbar ist.

Proteasom Bestandteil der Proteinqualitätskontrolle in Zellen, welche am kontrollierten Abbau von Proteinen beteiligt ist.[4]

Punktmutation Eine Form der genetischen Mutation, bei der eine einzelne Nukleobase ausgetauscht wird.

Restriktionsverdau Wissenschaftliche Methode, bei der mithilfe von Restriktionsenzymen DNA oder DNA-Moleküle an spezifischen Stellen geschnitten werden.

Signaltransduktion Form der molekularen Signalweiterleitung

***single nucleotide polymorphism* (SNP) Einzelnukleotidpolymorphismus(en)** Austausch eines einzelnen Nukleotids. Dies kommt sowohl in der codierenden, als auch in nicht-codierenden Regionen der DNA vor. Funktionelle Auswirkungen zeigen sich bei SNPs in codierenden Bereichen (z. B. Austausch von Aminosäuren oder in der Genregulation und Spleißen). Ansonsten handelt es sich um neutrale Mutationen.

Suprachiasmatischer Kern (SCN) Eine Region im Hypothalamus von Säugetieren, der als wichtigster aber nicht einziger Koordinator des artenspezifischen Tagesrhythmus fungiert. Vertiefende Literatur unter[5]

Templat Aus dem Englischen *template* bezeichnet Matrizen-DNA/ RNA, die bei dem Aufbau eines komplementären Stranges als Vorlage dient.

Transkriptionsfaktor(en) (TF(s)) Es werden die generellen Transkriptionsfaktoren (GTFs) und die regulatorischen Transkriptionsfaktoren (RTFs) unterschieden. Bei GTFs handelt es sich um Proteine, welche befähigt sind an die DNA zu binden und mit der Polymerase während der Transkription zu interagieren. Als RTFs werden regulatorische DNA-Sequenzen bezeichnet, die als spezifische Bindestellen für weitere Proteine bezeichnet, die die Initiation der Transkription beeinflussen.

Translokation Überführung eines Moleküls zwischen Zellkompartimenten

7 Transmembranhelices Rezeptor (7TM-Rezeptor) In die Zellmembran integrierter Proteinkomplex, der sowohl einen extra- als auch intrazellulären Bereich besitzt und über 7 Helices in der Membran verankert ist. Auch als G-Protein gekoppelte Rezeptoren bezeichnet.

---

4 Online Auftritt Nature Journal: ► https://www.nature.com/articles/4401702 (Hershko, A. (2005). The ubiquitin system for protein degradation and some of its roles in the control of the cell division cycle. *Cell Death & Differentiation*, *12*(9), 1191–1197). Zugegriffen am 21.02.2022

5 Vertiefende Literatur: Robert F. Schmidt (2013). *Gerhard Thews: Physiologie des Menschen*. (27. Aufl.) Springer, Berlin, ISBN 978-3-662-00485-2, S. 151.

variable number of tandem repeats (VNTRs) Genetische Variation des menschlichen Genoms, die zu einem Längenpolymorphismus führen, bei dem Wiederholungen des gleichen DNA-Sequenzmotifs auftreten.

Wildtyp Bezeichnung für Organismen oder Gene, die in einer durch die Evolution entstandenen Form vorliegen. Abweichungen entstehen durch Mutationen, wobei sich diese evolutionär durchsetzen können und man ab einen bestimmten Anteil in der Population von Polymorphismen spricht.

Zielsequenz Bezeichnet einen DNA-Abschnitt der im Rahmen der Polymerasekettenreaktion vervielfältigt werden soll. Nach Auftrennung der DNA in zwei komplementäre DNA-Einzelstränge ist hierbei der vorwärts Primer komplementär zur Start-Sequenz. Der rückwärts Primer bindet komplementär an die Stopp-Sequenz. Im Gegensatz zur vollständigen Zielgensequenz muss für die Polymerasekettenreaktion lediglich die DNA-Sequenz des vorwärts und rückwärts Primers bekannt sein.